

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



**EFFECTOS DEL PRECONDICIONAMIENTO ANESTÉSICO
CON SEVOFLURANO EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE
AUTOTRASPLANTE PULMONAR EN CERDOS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Javier Casanova Barea

Bajo la dirección de los doctores

Ignacio Garutti Martínez
Elena Vara Ameigeiras
Carlos Simón Adiego

Madrid, 2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

**Efectos del preconditionamiento anestésico
con sevoflurano en un modelo experimental
de autotrasplante pulmonar en cerdos**

Javier Casanova Barea

MADRID, 2012

Directores: Dr. Ignacio Garutti Martínez

Dra. Elena Vara Ameigeiras

Dr. Carlos Simón Adiego

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento,

Al Dr. Ignacio Garutti Martínez, Médico Adjunto de Anestesiología y Reanimación del Hospital Gregorio Marañón, por su capacidad de aunar el trabajo diario con los espíritus docente, científico e investigador.

Al Dr. Carlos Simón Adiego, Médico Adjunto de Cirugía Torácica del Hospital Gregorio Marañón, por su incansable afán por la investigación y su sorprendente capacidad de trabajo, sin cuyo estímulo no hubiera podido realizar esta tesis.

A la Dra. Elena Vara Ameigeiras, Catedrática del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, por apoyarme y estimularme en los momentos duros, así como abrirme las puertas del mundo de la Investigación Bioquímica.

Al Dr. Ramón Pérez Caballero, Facultativo Especialista del Área de Cirugía Cardíaca en el Hospital Gregorio Marañón, por iniciarme y darme el apoyo logístico necesario para dar los primeros pasos en la escritura de la tesis doctoral.

A Diana, por su incondicional apoyo a mis proyectos y facilitarme el valioso tiempo que he necesitado para desarrollar esta tesis.

A mi hermana y padres, para los que cualquier título es poco, porque no escatimaron esfuerzos en la formación y apoyo de sus hijos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Lesión por isquemia-reperfusión

1.1.1. Definición

1.1.2. Isquemia-reperfusión en pulmón

1.2. Fisiopatología de la isquemia-reperfusión

1.2.1. Fases de la isquemia-reperfusión

1.2.2. Mecanismos celulares: estrés oxidativo, inflamación y óxido nítrico

1.2.2.1. Estrés oxidativo en la isquemia-reperfusión pulmonar. Sistema hemoxigenasa

1.2.2.2. Respuesta inflamatoria y activación leucocitaria en la isquemia-reperfusión pulmonar

1.2.2.3. Metabolismo del óxido nítrico en la isquemia-reperfusión pulmonar

1.3. Manifestaciones clínicas

1.3.1. Manifestaciones clínicas de la lesión por isquemia reperfusión pulmonar (manifestaciones locales)

1.3.2. Manifestaciones clínicas de la lesión por isquemia reperfusión

1.4. Prevención de la lesión por isquemia reperfusión

1.4.1. Generalidades

1.4.2. Mecanismos protectores

1.4.2.1. Soluciones de preservación

1.4.2.2. Quelantes del hierro

- 1.4.2.3. Inhibidores del complemento
- 1.4.2.4. Inhibidores de moléculas de adhesión
- 1.4.2.5. Surfactante pulmonar
- 1.4.2.6. Precondicionamiento isquémico y anestésico

1.4.3. Gases halogenados. Precondicionamiento anestésico

2. HIPÓTESIS. OBJETIVOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Materiales

- 3.1.1. Material biológico: animales
- 3.1.2. Aparatos y material fungible
- 3.1.3. Quirófano e instalaciones

3.2. Métodos

- 3.2.1. Procedimiento quirúrgico
- 3.2.2. Desarrollo de experiencias
- 3.2.3. Registro de parámetros
- 3.2.4. Desarrollo de gráficas y análisis estadístico

4. RESULTADOS

5. DISCUSIÓN

5.1. Precondicionamiento: precondicionamiento anestésico con sevoflurano. Efectos citoprotectores en la lesión IR pulmonar

5.2. Efectos del sevoflurano sobre Inflamación/ estrés oxidativo y metabolismo del NO, y su papel sobre la lesión IR pulmonar

5.3. Efectos del sevoflurano sobre la Hemodinámica sistémica

5.4. Efectos del sevoflurano sobre la Hemodinámica pulmonar

5.5. Efectos del sevoflurano sobre la oxigenación e intercambio gaseoso

6. CONCLUSIONES

7. BIBLIOGRAFÍA

1. INTRODUCCIÓN.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LESIÓN POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

1.1.1 Definición

La palabra isquemia deriva de las griegas “ishein”, carencia, y “haima”, sangre. El síndrome de isquemia-reperfusión (IR) es una entidad clínica que se produce al restablecer el flujo sanguíneo (reperfusión) a un órgano previamente sometido a un periodo variable de isquemia. Así, se llama lesión por IR al deterioro que se produce en los tejidos tras reanudarse la perfusión. Este tipo de lesión es una fuente importante de morbilidad y mortalidad en diversas enfermedades y situaciones clínicas, como el infarto de miocardio, enfermedades vasculares cerebrales o periféricas y los trasplantes de órganos (1), así como en diversas intervenciones quirúrgicas durante las que hay que interrumpir el riego sanguíneo en un órgano o extremidad.

1.1.2 Relevancia de la lesión por isquemia-reperfusión en el pulmón

Cada órgano o tejido del organismo tiene una sensibilidad y resistencia distinta para la pérdida total o parcial de su flujo sanguíneo, que varía desde pocos minutos, en el caso del cerebro, a horas en el caso de las extremidades. En los trasplantes de órganos, el síndrome de IR es, después del rechazo inmunológico, la causa más importante relacionada con la pérdida de órgano trasplantado. Para alcanzar el éxito en el caso de los trasplantes es fundamental la preservación del injerto, de tal manera que se minimice el daño en relación a la ausencia de flujo.

A nivel pulmonar, la lesión IR es de vital importancia. Existen diversas situaciones clínicas que obligan a someter a este tejido a periodos de isquemia más o menos prolongados, con el consiguiente riesgo de distrés respiratorio agudo postreperfusión. Entre estas situaciones clínicas destacan:

- A) Pacientes con función respiratoria límite que son sometidos a resección pulmonar y en los que prima, por tanto, preservar la mayor cantidad de parénquima pulmonar. Esto obliga a la realización de resecciones en manguito bronquial y / o vascular, lo que conlleva un periodo de isquemia pulmonar variable.
- B) En el trasplante de lóbulos pulmonares de donante vivo (2) donde se produce un periodo de isquemia caliente de los lóbulos trasplantados y, a pesar de realizar procedimientos de protección, son frecuentes el edema por reperfusión y la ventilación asistida prolongada.
- C) En ciertos casos de complicaciones hemorrágicas, donde la reparación ex-situ del pulmón viable y su reimplantación posterior, puede evitar la realización de neumonectomías imprevistas.
- D) En determinados casos de tumores hiliares y de disección complicada, en los que el paciente no tolera funcionalmente una neumonectomía, se ha planteado la posibilidad de realizar la neumonectomía, lobectomía ex-situ y posterior reimplante del lóbulo restante, con el consiguiente proceso de IR lobar (3).

El autotrasplante pulmonar es un modelo de IR pulmonar y por ello su estudio tiene aplicación clínica para situaciones cuyas limitaciones sea la IR pulmonar como los anteriormente citados. Así pues el modelo experimental de IR que planteamos en nuestro trabajo se fundamenta en la utilidad clínica.

Se han descrito diferentes tipos de isquemia:

- La isquemia caliente, que sucede con la interrupción del flujo sanguíneo, y en la que la temperatura del órgano se mantiene al mismo nivel que tiene habitualmente en el organismo.
- La isquemia fría, que se desarrolla con el órgano fuera del organismo, a una temperatura de 4°C, con la finalidad de enlentecer el metabolismo del órgano al máximo antes de ser implantado. La isquemia fría es necesaria para el almacenamiento del órgano desde el

momento que se extrae hasta que se implanta en el receptor (4). La hipotermia provoca un descenso de la tasa metabólica y de destrucción de componentes celulares esenciales. Sin embargo, pese a la hipotermia, existen numerosos mecanismos que activan los mediadores de la inflamación y son deletéreos para el órgano preservado en el momento de la reperusión. Finalmente, se ha descrito la lesión de preservación, que aparece tras la isquemia fría. Es importante reseñar que los procesos que ocurren durante este período tendrán trascendencia en la viabilidad del injerto una vez trasplantado (5).

- Finalmente, con el desarrollo del trasplante de órganos de donantes en parada cardíaca, se han desarrollado una serie de técnicas de preservación in situ de los órganos para mantenerlos hasta que se pueda hacer la extracción multiorgánica de los mismos, donde el órgano se mantiene a unos 12-14°C (isquemia tibia) durante el menor tiempo posible (6).

La mayor parte de los estudios para preservar el tejido pulmonar de los efectos de la IR se realizan en modelos experimentales o en situaciones clínicas de trasplante pulmonar con isquemia fría, usando diferentes soluciones de preservación. Las conclusiones de estos trabajos no pueden ser aplicadas a la mayoría de las situaciones descritas, en las que el periodo de isquemia tienen lugar sin enfriamiento del órgano y sin sustitución de la sangre por una solución de preservación (7).

Por tanto, dentro de los modelos experimentales, resultan de mayor interés para la aplicación clínica posterior, los modelos animales de isquemia tibia-caliente pulmonar. La mayoría se realizan mediante oclusión in-situ de los vasos pulmonares en pequeños roedores (8-9). Es menos frecuente encontrar trabajos que describan procedimientos quirúrgicos más parecidos a los realizados en humanos. El autotrasplante pulmonar en grandes mamíferos cumple en gran medida este objetivo; ha sido descrito en perros (10-11), ovejas (12) y cerdos (13), pero pocos de estos trabajos profundizan en los mediadores inflamatorios durante la IR normotérmica (14).

1.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA LESIÓN POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

1.2.1. Fases de la IR

Durante el proceso de abolición del flujo sanguíneo de un órgano, y su posterior restauración, se desarrollan cronológicamente una serie de lesiones que, en función de su reversibilidad, van a hacer que un órgano o tejido tenga o no posterior viabilidad funcional.

La primera fase se caracteriza por la lesión isquémica, en la que se interrumpe el aporte de oxígeno al órgano y el metabolismo celular del mismo se transforma de aerobio en anaerobio. A partir de este hecho, si el flujo sanguíneo no se restablece se produce una secuencia de hechos bioquímicos que llevan a la disfunción celular, al edema intersticial y finalmente a la muerte celular. El metabolismo anaerobio existente, junto con el aumento del ácido láctico local, provocan una acidosis metabólica, con disminución del nivel energético que se asocia a alteraciones en el gradiente transmembrana celular que impide el mantenimiento de la homeostasis celular. Con la disminución del nivel energético y degradación de los metabolitos de alta energía aparece una disfunción del sistema de transporte transmembrana que genera un incremento del Ca^{2+} citosólico (15). El aumento del Ca^{2+} activa diferentes sistemas enzimáticos, actuando como segundo mensajero, tales como fosfolipasas y proteasas, implicados fundamentalmente en la respuesta inflamatoria que posteriormente se desarrollará. Otras de las enzimas activadas es la xantina oxidasa y secundariamente se activa la producción de peróxido de hidrógeno (16).

Se ha observado que durante la restauración de nuevo del flujo sanguíneo se producen la mayoría de las lesiones o, al menos, se ponen de manifiesto aquellas que se habían iniciado durante la isquemia, denominándose por ello lesión por reperfusión. De hecho las lesiones que se producen al restablecer el flujo son incluso mayores que las provocadas durante el periodo de isquemia (17).

Durante la reperfusión, proceso imprescindible para la viabilidad del órgano, se produce el restablecimiento del flujo sanguíneo y se recupera el nivel energético que había disminuido durante la isquemia. Al inicio de la reperfusión aparecen una serie de lesiones, que son distintas de las que aparecen tras 4-6 h de comenzar la reperfusión (18).

Se ponen de manifiesto los efectos de los metabolitos tóxicos, que se habían formado durante la fase previa, que pueden tener repercusión local y sistémica, ya que al pasar el flujo sanguíneo por el tejido afectado transporta los descritos metabolitos a todo el organismo produciendo efectos en distintos órganos lejanos como el pulmón, corazón, hígado, SNC, etc. Entre los principales efectos que se han descrito, destacan los siguientes:

- a) Migración y activación de neutrófilos al torrente sanguíneo.
- b) Expresión de proteínas de adhesión para polimorfonucleares en los endotelios vasculares.
- c) Migración de polimorfonucleares al espacio extravascular, especialmente en pulmón, produciendo edema inflamatorio en el tejido intersticial (19).
- d) Activación del metabolismo del ácido araquidónico y su consecuente producción de prostaglandinas, prostacclinas y tromboxanos, mediadores de la inflamación que no sólo atraen más células pro-inflamatorias, sino que producen modificaciones del endotelio con aumento de la permeabilidad capilar, salida de plasma al intersticio, pavimentación leucocitaria y aumento de la diapedesis.
- e) Vasoconstricción, agregación plaquetaria y microtrombosis vascular.

1.2.2 Mecanismos celulares de la lesión IR

1.2.2.1 Estrés oxidativo en la IR pulmonar. Sistema hemoxigenasa

El estrés oxidativo consiste en la formación de radicales libres de oxígeno (RLO) como son el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo durante el periodo de reperfusión (20). Estas moléculas, en especial el radical hidroxilo, son muy inestables y

reaccionan con gran facilidad atacando los enlaces insaturados de los ácidos grasos libres en la bicapa fosfolipídica de la membrana celular. Esta reacción, denominada lipoperoxidación, se propaga en cadena y provoca la fragmentación de la membrana celular y, con ello, severas alteraciones estructurales y funcionales de la membrana, finalizando en un daño celular irreversible (21). En esta reacción se generan aldehídos, como el malondialdehído (MDA) que se utilizan como indicadores del grado de peroxidación lipídica. Esto se ha demostrado en muchas células de parénquima pulmonar, incluidas las células endoteliales, neumocitos tipo II, células de Clara, células ciliadas y macrófagos (22). Existen varios mecanismos por los que se producen los radicales libres de oxígeno:

a)Acumulación de hipoxantina: A partir del metabolismo del ATP se genera hipoxantina, base nitrogenada sustrato de la xantina deshidrogenasa y de la xantina oxidasa u óxidoreductasa (XOR). Esta enzima se sintetiza bajo la forma xantín-deshidrogenasa, constituyendo el 90% de su actividad en tejido sano; cataliza el paso de hipoxantina a xantina y de ésta a ácido úrico, reduciendo el NADP a NADPH. Un segundo tipo actúa bajo la forma oxidasa, catalizando la misma conversión, pero utiliza el oxígeno como aceptor de electrones para generar O^{2-} y ácido úrico (23). Es muy escasa en el tejido sano, pero aumenta considerablemente en situación de isquemia.

El déficit de actividad de la bomba $ATPasa\ Na^{+}/K^{+}$ que se produce durante la isquemia determina la entrada masiva de Ca^{2+} al interior de la célula, el cual provoca la activación de proteasas calcio-dependientes, encargadas de la transformación de la enzima xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa. Existen numerosos estudios que han demostrado que los calcioantagonistas (verapamilo, diltiazem y nifedipino) administrados al donante reducen este efecto (24).

La deplección de ATP celular, como consecuencia de la falta de oxígeno, conlleva una elevación del AMP, que a su vez es catabolizado sucesivamente hasta hipoxantina, sustrato de la xantina oxidasa (25). El aumento de la enzima y del sustrato (hipoxantina) explicaría la considerable producción de radicales $O_2^{\cdot -}$ en el tejido reperfundido (26)(Figura 1). Este fenómeno ocurre cuando la tensión alveolar de oxígeno cae por debajo de 7 mmHg durante la isquemia. Este mecanismo se puede bloquear mediante fármacos inhibidores de la xantina oxidasa como el alopurinol, aunque sus resultados son discretos en cuanto a prevención de la lesión por IR (27). Otro fármaco en estudio, el febuxostat (figura 2) parece tener resultados prometedores bloqueando el sistema enzimático (28).

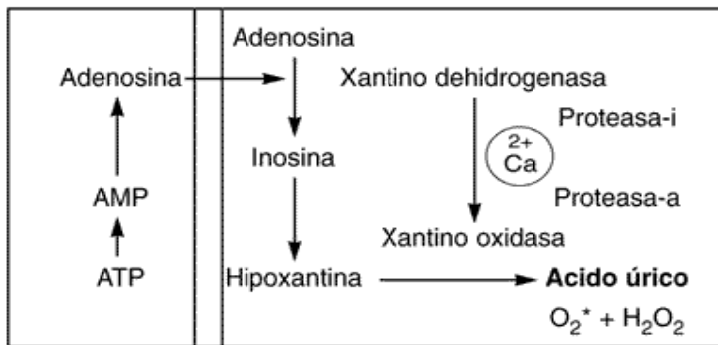


Figura 1. Formación de radicales de oxígeno durante la isquemia por la vía de la xantina oxidasa.

Parece ser que la hipoxia aumenta la actividad enzimática del sistema XOR no sólo de forma precoz (se ha visto que aumenta la actividad a las 4 horas del daño isquémico), sino que también aumentaría el mRNA del XOR tras días de estímulo (29).

El cómo produce el sistema XOR daño a nivel pulmonar, se debe a diferentes mecanismos patogénicos, en íntima relación por supuesto, con la producción de RLO. Hay diferentes estímulos que aumentan la síntesis de XOR (30), entre ellos destacan:

- Hipoxia (31).
- Citokinas: $TNF\alpha$, $IL\ 1\beta$, γIFN (32).

- Estrés mecánico, en concreto la ventilación pulmonar (33) con altos volúmenes tidal: aumenta la síntesis de MAP kinasas p38, ERK5, ERK ½.
- Endotoxinas.

Todo ello incrementa XOR y con ello la producción de RLO, que provocan daño pulmonar (34) de las siguientes formas:

- Aumentando el fluido proteinaceo alveolar.
- Aumentando los polimorfonucleares neutrófilos (PMN).
- Aumentando la permeabilidad vascular.
- Disminuyendo el surfactante, tanto en cantidad, como en calidad.
- Parece ser que podrían alterar el citoesqueleto celular.

Por otro lado, cabe mencionar, que la isquemia, disminuye la actividad de la bomba Na/K, lo que favorece la entrada masiva de calcio al interior de las células. Como ya se ha mencionado, ésto activa a diferentes proteasas, que tienen la capacidad de aumentar la forma xantina oxidasa y producir RLO (figura 2).

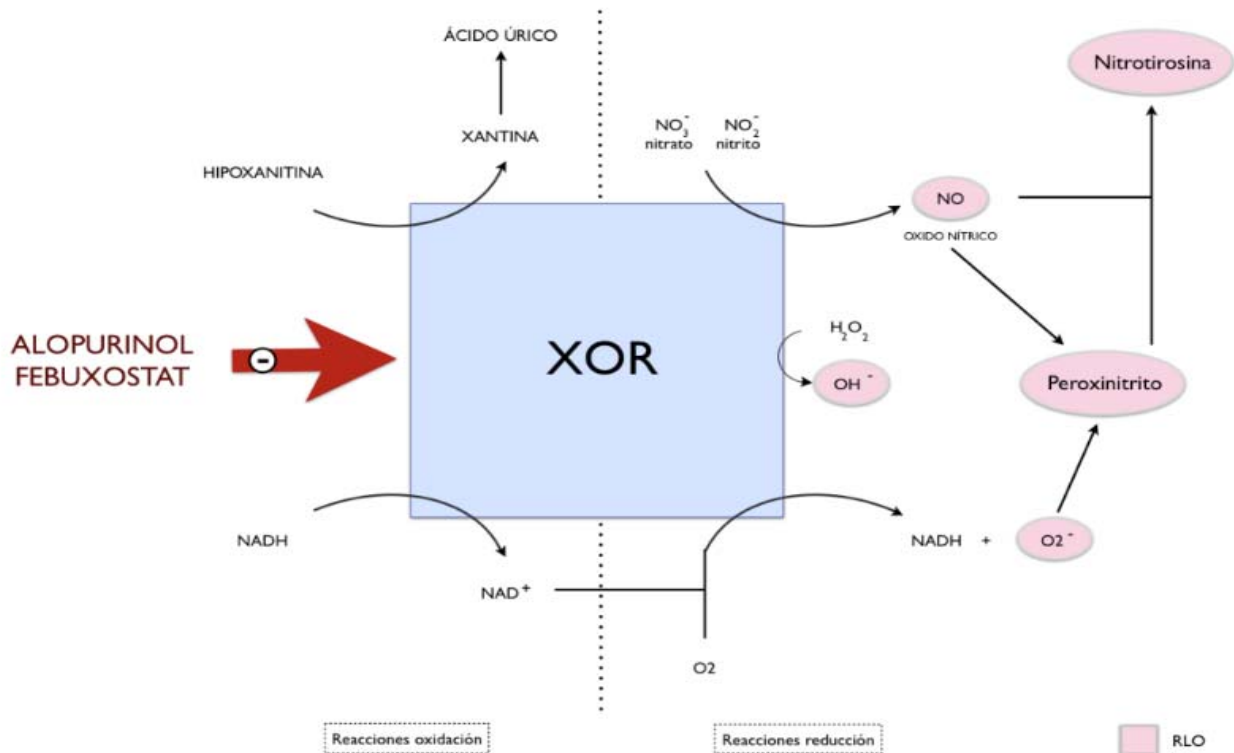
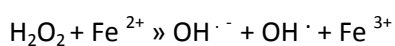
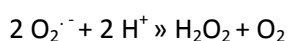
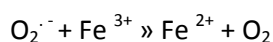


Figura 2. Sistema enzimático xantin óxido reductasa y fármacos inhibidores. Producción de RLO.

b)Vía NADPH (Nicotiamida-Adenina Dinucleótido fosfato): Este mecanismo se halla en la membrana celular de neutrófilos y monocitos/macrófagos y cataliza la reducción de oxígeno molecular a peróxido de hidrógeno y anión superóxido (35).

c)Aumento del hierro: Se trata de un elemento esencial, pero en circunstancias de estrés puede ser tóxico por su alto poder oxidante. En su forma libre el hierro puede aparecer en forma oxidada (Fe^{3+}) o reducida (Fe^{2+}), y participar de esta forma en la reacción de Fenton:



Reacción neta: $O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \gg O_2 + OH^{\cdot -} + OH^{\cdot}$

De esta manera se produce el altamente reactivo radical hidroxilo. La importancia del hierro en el daño IR se ha demostrado por el aumento en el daño tisular de tejidos con suplementos de hierro, y además en cómo los quelantes del hierro como la deferroxamina ofrecen protección a este respecto (36).

El endotelio parece ser la fuente predominante de RLO tras la isquemia pulmonar no hipóxica. Estas células son altamente sensibles a los cambios en el flujo sanguíneo, y son capaces de transformar estas señales mecánicas en otras eléctricas y bioquímicas (mecanotransducción). Así pues la ausencia de flujo durante la isquemia provoca una despolarización endotelial con la activación de NADPH oxidasa, el factor nuclear κB , y la óxido nítrico sintetasa (NOS) dependiente de calcio/calmodulina. Otras células como macrófagos y /ó neutrófilos pueden contribuir en este proceso (37).

Existen varios mecanismos fisiológicos para proteger al organismo y en este caso al pulmón del daño causado por los radicales libres. Entre ellos destacan los sistemas enzimáticos como la Superóxido dismutasa, GSH-peroxidasa y la Hemoxigenasa (HO). Este último sistema resulta uno de los más importantes ya que se encarga de transformar el grupo heme en monóxido de carbono (CO), biliverdina y hierro (Fe^{2+}). El sistema HO consta de tres isoformas:

- HO-1, también conocida como proteína de shock térmico 32: Posee un efecto citoprotector, y su expresión se induce en situaciones de estrés, hipoxia, inflamación e isquemia-reperfusión entre otros. El mecanismo por el que confiere citoprotección no está muy claro, si bien se achaca al que tienen sus productos (CO, biliverdina y Fe^{2+}), ya que éstos tienen un papel antioxidante (biliverdina) (38) e inhibidor de otras citoquinas como es el caso del CO, que vía proteína 38 de las proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAPKs), inhibe la expresión de otras citoquinas como $TNF\alpha$ e IL-1 (39).

- HO-2: Isoforma constitutiva y ampliamente distribuida por el organismo. Se expresa en condiciones de homeostasia para catabolizar al grupo hemo (40).
- HO-3: Isoforma constitutiva no catalítica. Se cree que tiene funciones como sensor de oxígeno (41).

1.2.2.2 Activación de la inflamación y leucocitaria en la IR pulmonar

Como consecuencia de los cambios moleculares y tisulares provocados por los fenómenos derivados del estrés oxidativo en el pulmón dañado se produce una activación de la inflamación mediada por diversas moléculas y células (figura 3). Entre los mediadores inflamatorios destacan las citoquinas, el sistema del complemento, las selectinas y otras moléculas de adhesión celular (42). Juegan un papel fundamental en procesos inflamatorios, y en el caso del daño IR, pueden medirse sus cantidades antes y después de la reperusión.

1- Citoquinas: Se tenía el conocimiento que ciertas sustancias de naturaleza proteica eran capaces de mediar e interactuar entre diferentes células, así fue que las primeras denominaciones hacían referencia a las células que las producían; se hablaba, de linfocinas, monocinas o interleucinas según fuesen producidas por los linfocitos, los monocitos-macrófagos o los leucocitos polimorfonucleares. Estudios posteriores permitieron determinar que tales sustancias eran producidas por diferentes tipos celulares del sistema inmune (macrófagos, linfocitos T, NK) y células no inmunes (fibroblastos, células endoteliales) por lo que se le dio un nombre más amplio: citoquinas o citocinas (43). Dentro de este nombre se agrupan: interleuquinas, quimioquinas, interferones, factores estimuladores de colonias, factores de crecimiento, factores de necrosis tumoral.

Algunos autores consideran las citoquinas como inmunohormonas que ejercen su acción en forma autocrina o paracrina, produciendo efectos muy variables que comprenden: la modulación

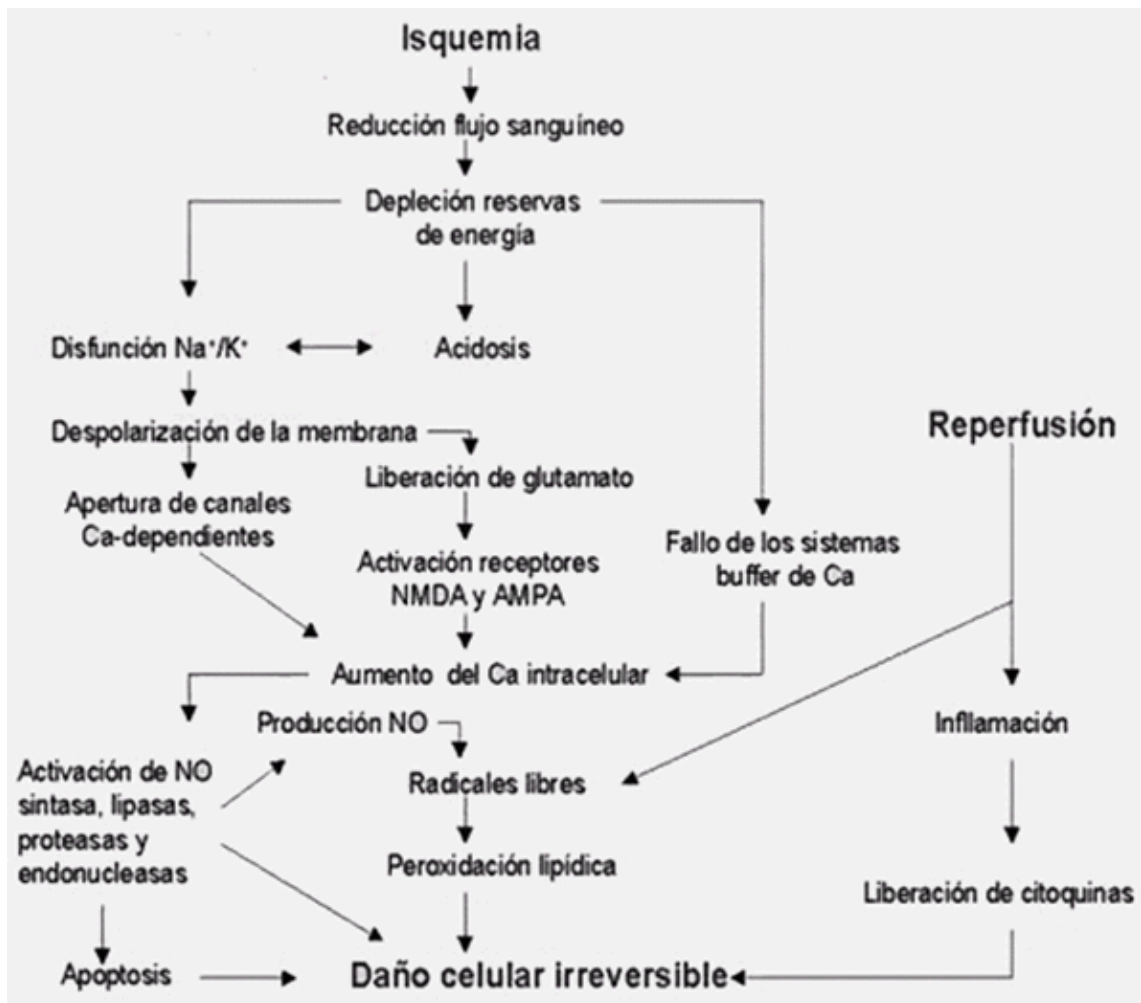


Figura 3. Mecanismos del daño celular en la lesión por isquemia reperfusion.

de la respuesta inmune, el crecimiento y diferenciación de las células hematopoyéticas, la regeneración tisular y la angiogénesis, entre otras (44). Durante la activación celular que sigue como respuesta a un estímulo, se producen y se unen de forma transitoria a receptores específicos de membrana.

Funcionalmente presentan retroregulaciones positivas y negativas entre sí y por lo general no actúan solas sino con otras citoquinas, producidas por la misma célula, pudiendo inducir, potenciar o inhibir la producción de otras citoquinas y/o modular negativa o positivamente los efectos de dichas moléculas. Por otro lado, al actuar sobre diferentes tipos celulares, ejercen múltiples efectos (pleiotrópicos) e igualmente comparten muchos de ellos (redundantes) (45). La

caracterización de las funciones específicas de cada citoquina y el desarrollo de la tecnología del DNA recombinante, que ha permitido obtener cantidades importantes de cada citoquina purificada, despertaron el interés por investigar la utilidad de estas proteínas en el tratamiento de diferentes enfermedades.

Las citoquinas son un grupo de proteínas o glucoproteínas secretadas, de bajo peso molecular (por lo general menos de 30 kDa) (46). Aunque existen muchos tipos de células productoras de citoquinas, dentro del sistema inmune natural los macrófagos son las células más comprometidas en la síntesis de citoquinas, mientras que en el sistema inmune específico son las células T colaboradoras ya que sus citoquinas son esenciales para que se produzca la respuesta inmune, una vez activadas por el contacto con las correspondientes células presentadoras de antígeno (19, 47). Se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica. La producción de las citoquinas suele ser breve (transitoria), limitada al lapso de tiempo que dura el estímulo (es decir, el agente extraño). En muchos casos ello se debe a que los correspondientes ARNm tienen una corta vida media (48). Las interleuquinas y el factor de necrosis tumoral son algunas de las citoquinas más destacables.

a) Interleuquinas (IL): Son un conjunto de proteínas solubles de bajo peso molecular, sintetizadas principalmente por los leucocitos, aunque en algún caso también pueden intervenir células endoteliales o del estroma del timo o de la médula ósea. Se conocen en la actualidad no menos de 33 subtipos que difieren entre sí tanto desde el punto de vista químico como del biológico. Mientras algunas de ellas (IL-4, IL-10, IL-11) presentan esencialmente efectos favorables, otras (IL-1, IL-6, IL-8), paralelamente a su función defensiva, pueden también ser deletéreas para el organismo (15).

La IL-1 es un polipéptido de 17 kilodaltons entre cuyas funciones se encuentran: 1) Modulación del proceso de extravasación, y localización de los focos de inflamación por los leucocitos. 2) Estimula la producción endotelial de moléculas de adhesión, factores procoagulantes y de fibrinólisis, linfoquinas, prostaglandina I₂ y factor activador de plaquetas entre otros (49).

b)El factor de necrosis tumoral (TNF): se trata de una glicoproteína de 185 aminoácidos que procede de un propéptido de 212 aminoácidos. Tiene un importante rol en el sistema inmunitario del huésped, es un mediador de la inflamación local, vital para mantener localizadas las infecciones. La liberación de TNF- α produce activación local del endotelio vascular, liberación de óxido nítrico con vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Esto lleva al reclutamiento de las células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento, provocando la activación de los linfocitos T y B (50). También aumenta la activación y adhesión plaquetaria y, probablemente, la oclusión vascular. Las acciones del TNF se deben a sus uniones a 2 receptores celulares diferentes que se hallan en células distintas como neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos. Además estos receptores se encuentran en estado soluble en el suero y en el líquido sinovial (51).

Aunque localmente los efectos del TNF- α son beneficiosos, a nivel sistémico son desastrosos llevando a síndromes como el choque séptico y la coagulación intravascular diseminada (52). Además, se ha demostrado que el TNF- α inhibe la formación de surfactante por parte de los neumocitos tipo II, contribuyendo así en el desarrollo de distrés respiratorio (53) .

En la artritis reumatoidea se demostró un aumento de TNF- α sérico, aumento de los productos de los macrófagos (TNF- α , interleucina 1, interleucina 6 e interleucina 8) en el líquido y tejido sinovial, en correlación con la severidad de la enfermedad y, lo más importante, mejoría clínica cuando la terapéutica se dirige contra TNF (54).

Son posibles dos nuevos enfoques para disminuir la actividad de TNF: tratamientos con anticuerpos anti-TNF- α y la administración de receptores solubles de TNF.

En el tejido pulmonar sano existe una expresión normal de escasa cuantía de IL-1 y TNF- α , la cual se ve incrementada anormalmente a los 30 minutos de cesar la isquemia del tejido pulmonar. Esto hace que se relacione al TNF- α y a la IL-1 con la lesión derivada de los fenómenos de isquemia reperfusión pulmonar (55). A este nivel, estas citoquinas modulan el proceso de extravasación y migración leucocitaria, el cual envuelve procesos de adhesión y paso de leucocitos a través del endotelio (49). La IL-1, además, induce la producción de RLO en los procesos de IR pulmonar (56).

Otras IL con gran trascendencia en la lesión IR pulmonar son la IL-8 y la IL-10. La IL- 8, aumenta considerablemente tras la reperfusión, es una potente molécula favorecedora de la quimiotaxis de los neutrófilos, y su aumento se correlaciona con mala función pulmonar (PaO₂/FiO₂ disminuido y aumento de presiones en vía aérea) y aumento de la mortalidad por fallo primario del injerto (57). Sin embargo la IL-10 tiene un efecto antiinflamatorio, y se correlaciona inversamente con la edad de los donantes de órganos. Esto explica en cierto modo, por qué los órganos provenientes de pacientes mayores son más susceptibles de sufrir daño por IR y por tanto, una mayor mortalidad.

Respecto a los leucocitos, en la IR y por tanto en el trasplante pulmonar, la evidencia clínica y experimental sugiere que el daño IR ocurre de manera bifásica. La fase temprana de reperfusión, donde el daño a los tejidos depende fundamentalmente por los productos derivados de la activación de los macrófagos pulmonares (58). En el caso del trasplante pulmonar, los macrófagos pulmonares del donante se activan por la isquemia y median la fase temprana del daño IR en el huésped (59). La fase tardía está mediada por los linfocitos (linfocitos T y natural killer) y neutrófilos (60)(infiltrando el tejido pulmonar en las primeras 24 horas postimplante), encargados de perpetuar el daño post-reperfusión (61). En el caso del trasplante pulmonar, esta segunda fase es más dependiente de las características del receptor. Se están estudiando terapias antilinfocitarias en los donantes para disminuir la respuesta inflamatoria desencadenada por los

linfocitos T (19). La activación leucocitaria en estas situaciones da lugar a la perpetuación de la respuesta inflamatoria, puesto que liberan sustancias quimiotácticas al tiempo que vacían sus lisosomas provocando daños en los tejidos. La principal enzima de estos lisosomas es la mieloperoxidasa (MPO), que se utiliza como marcador de infiltración leucocitaria en los tejidos (58, 62).

2- Sistema de complemento: Forma parte de la cascada inflamatoria que acontece en la IR pulmonar y se relaciona con daño vascular y tisular, así como con el reclutamiento y la activación leucocitaria. Incluye aproximadamente 35 proteínas diferentes, algunas de las cuales actúan como enzimas, cofactores, inhibidores o activadores y componentes de las membranas celulares (63). El sistema de complemento protege en condiciones normales de infecciones víricas y bacterianas, pero también está implicado en la IR. Se activa de forma precoz, localmente durante la reperusión, y constituye un potente estímulo inflamatorio (64).

De entre las proteínas del complemento cabe destacar el papel de C5a. Interviene en el reclutamiento y activación de numerosas células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, macrófagos y microglía); aumenta la liberación de aminas vasoactivas, enzimas lisosomales, RLO y proteasas; aumenta la permeabilidad vascular; estimula la contracción del músculo liso; y aumenta la síntesis de moléculas de adhesión en el endotelio pulmonar (65). El complejo de ataque de membrana forma poros en la membrana celular de unos 10 mμ de diámetro lo que produce la lisis celular, además activa la fosfolipasa (dando lugar a la formación de leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos y citokinas), y parece ser que activaría el endotelio y el músculo liso (66).

Existen varios reguladores del sistema de complemento que modulan su activación: C1-inhibidor, proteína ligadora C4, el factor H, el factor S. También disponemos de reguladores a nivel celular (CR-1, MCP, DAF, CD59). La regulación del complemento está comprometida en

diferentes enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide, así como en el distrés respiratorio del adulto (67).

3- Moléculas de adhesión: En el endotelio pulmonar se van a sintetizar numerosas moléculas de membrana y factores quimiotácticos que tienen un papel determinante en el reclutamiento de células inflamatorias. Las integrinas, las selectinas y las inmunoglobulinas son algunas de ellas. Se sintetizan otras muchas como la proteína quimiotáctica del monocito-1 o la citokina quimiotáctica del neutrófilo (68). Parece ser que bloqueando algunas de estas moléculas se ha conseguido una disminución del daño provocado durante la IR (69).

1.2.2.3. Metabolismo del óxido nítrico en la IR pulmonar

La historia del óxido nítrico (NO) es reciente pero intensa: en 1980, como resultado de estudios de fisiología orientados a conocer cómo se regula la presión sanguínea, se identificó un “factor relajante del endotelio” que es producido por las células y que participa en el mantenimiento del tono muscular de los vasos sanguíneos y, por tanto, en la regulación de la presión sanguínea (70). Años después se demostró que este factor es el NO y se identificó el modo en que las células lo sintetizan a partir del aminoácido L-arginina (71). A partir de ese momento, el interés por el NO creció de modo exponencial, así como el reconocimiento científico a sus descubridores.

Óxido nítrico. Síntesis y acciones:

El NO es un gas incoloro (a 1 atmósfera de presión y temperatura ambiente). Su punto de ebullición es de -151,7 °C a 1 atmósfera. Es una molécula con carácter apolar y su solubilidad máxima en agua es similar a la del O₂ (72).

El óxido nítrico se produce cuando el aminoácido L-arginina es transformado por la enzima Óxido nítrico sintetasa (NOS) en presencia de oxígeno y cofactores en L-citrulina (figura 4). El

cación Ca^{2+} es fundamental para la activación de la enzima NOS en sus formas constitutivas pero no en la inducible (73).

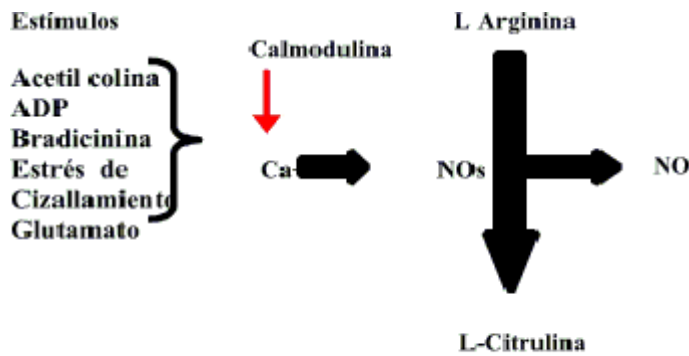


Figura 4. Esquema de la liberación constitutiva de NO.

Existen tres isoformas de la enzima NOS:

a) NOS I ó neuronal NOS (nNOS): Se trata de una de las formas constitutivas de la NOS presente en las neuronas tanto del Sistema Nervioso Central como Autonómico. Las funciones del NO a nivel del Sistema Nervioso son como neurotransmisor (72).

b) NOS III ó endotelial NOS (eNOS): Es la segunda de las formas constitutivas de la NOS, presente en el endotelio. Las funciones del NO a este nivel son fundamentalmente; vasodilatación, inhibición de la agregación y adhesión plaquetaria e inhibición de la migración y adhesión leucocitaria (74).

c) NOS II ó inducible NOS (iNOS): Esta enzima, presente fundamentalmente en macrófagos, se expresa en situaciones patológicas como por ejemplo procesos inflamatorios. El NO producido de esta forma tiene unos efectos duales; por un lado un efecto beneficioso actuando como

antimicrobiano, ya que inhibe la síntesis de ADN y moviliza los depósitos de hierro de los tejidos (75), pero por otro lado grandes cantidades de NO producido por esta vía reaccionarían con otras RLO, como aniones superóxido, generadas en procesos patológicos, formándose compuestos altamente tóxicos como los peroxinitritos y los radicales hidroxilo (76).

No está claro el papel del NO en la lesión por IR, debido precisamente a la dualidad que presenta dependiendo de qué isoforma lo produzca y en qué cantidades. Por tanto lo fundamental en este sentido es conocer las circunstancias que hacen que se exprese la iNOS en lugar de que la producción de NO provenga de la eNOS.

El NO inhalado se usa en el trasplante pulmonar con relativa frecuencia porque disminuye los días de ventilación mecánica y la estancia en unidades de cuidados críticos pero no parece disminuir el daño por reperfusión que surge del proceso propio del trasplante (77).

1.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

1.3.1 Manifestaciones clínicas de la lesión por isquemia reperfusión pulmonar (manifestaciones locales)

En un primer momento se pensaba que el pulmón era resistente a la lesión isquémica debido a su doble circulación (sistémica mediante las arterias bronquiales y pulmonar) y su aporte independiente de oxígeno en el espacio alveolar (78). El oxígeno alveolar mantiene el metabolismo aerobio y previene la hipoxia. De ahí que el estrés oxidativo resultante de la isquemia debe ser diferenciado del provocado por la hipoxia.

Las principales situaciones en las que el pulmón se ve sometido al fenómeno IR suceden en los trasplantes pulmonares. Esta técnica es el último escalón en el tratamiento de algunas enfermedades como son:

- Fibrosis quística y bronquiectasias.
- Enfisema pulmonar (incluyendo el déficit de alfa1-antitripsina).
- Fibrosis pulmonar idiopática.
- Hipertensión pulmonar primaria.

En este sentido, el daño IR sigue significando una de las principales causas de daño pulmonar, aumentando significativamente la morbi-mortalidad temprana tras un trasplante pulmonar. El síndrome IR típicamente, ocurre en las primeras 72 horas después del trasplante y se caracteriza por daño alveolar inespecífico, edema pulmonar e hipoxemia, todos ellos en grado variable, es decir, clínicamente aparece edema intersticial y alveolar pulmonar no cardiogénico, aumento de las resistencias vasculares pulmonares, alteración de la oxigenación y disminución de la complianza (79). Clínicamente, varía desde un leve infiltrado radiológico, hasta un cuadro de distrés respiratorio del adulto (SDRA). El daño por IR constituye la primera causa de fallo primario del injerto pulmonar y éste a su vez se ha relacionado con un aumento del riesgo de rechazo agudo y, a medio-largo plazo, desarrollo de bronquiolitis obliterante como expresión de rechazo crónico (80).

1.3.2. Manifestaciones clínicas sistémicas de la lesión por IR

A nivel sistémico, aparece una acidosis metabólica y una hipercaliemia que, si no se compensan, pueden conducir a la muerte del sujeto. Aparecen, además, mioglobinemias y mioglobinurias, y en el pulmón se describe un aumento de la permeabilidad microvascular y una acumulación de neutrófilos, pudiéndose desarrollar el denominado edema pulmonar no cardiogénico (pulmón de distrés) (81).

Se han implicado numerosos metabolitos y células en la lesión por isquemia-reperfusión, con una importancia diferente según el momento en que intervienen en la misma. Otras manifestaciones clínicas (figura 5) de la lesión por IR pero a nivel local son:

Fenómeno de no reflujo: caracterizado por la imposibilidad de la reperfusión del órgano debido a la obstrucción progresiva en la microcirculación. Al parecer está provocado por un aumento de la adhesión de leucocitos al endotelio y al incremento de la agregabilidad plaquetaria, edema intersticial y disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio, lo que se traduce finalmente en una obstrucción mecánica de la microcirculación (82). A este respecto se ha observado que la administración de fibrinolíticos al comienzo de la reperfusión mejora y previene este cuadro.

Aturdimiento miocárdico: Se trata de la disfunción miocárdica reversible, al parecer provocada por; la insuficiente síntesis de ATP tras la reperfusión, espasmos microvasculares coronarios y daño celular mediado por radicales libres de oxígeno.

Arritmias cardíacas: Provocadas fundamentalmente por el descenso del pH por el metabolismo anaerobio durante la isquemia y la acumulación de ácido láctico. Pueden llegar a provocar taquicardia y/o fibrilación ventricular entre un amplio abanico de taquiarritmias como el ritmo idioventricular acelerado, especialmente si se produce una restauración súbita del flujo tras periodos superiores a los 30 minutos de isquemia (83).

Sistema Nervioso Central: Se produce por la disrupción de la barrera hematoencefálica, lo que provoca la infiltración de leucocitos en el tejido subyacente, aumento de proteasas y producción de radicales libres de oxígeno que van a dañar de forma irreversible a los tejidos. Además la rotura de la barrera hematoencefálica por IR provoca el desarrollo de edema cerebral y aumento de la presión intracraneal, comprometiendo así la perfusión del cerebro y siendo potencialmente letal (84).

Gastrointestinal: A nivel intestinal, la IR provoca alteraciones en la motilidad, absorción y fundamentalmente la disfunción de la barrera intestinal, lo que lleva a un aumento de la permeabilidad intestinal y a la traslocación bacteriana que migrarán al torrente circulatorio, provocando sepsis e incluso choque séptico (85).

Músculo esquelético: La lesión a este nivel se basa en la alteración de la permeabilidad capilar, con edema postisquémico como consecuencia de la trasudación de líquido. Conforme la presión aumenta los capilares son comprimidos y el cuadro empeora, manteniendo el metabolismo anaeróbico. La reperusión resultante de la liberación de los compartimentos musculares comprometidos condiciona la presencia de mioglobinuria y fallo renal, con hiperpotasemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, trombocitopenia, uremia y acidosis metabólica (86).

Fallo multiorgánico: El daño por IR provoca una respuesta inflamatoria que puede desembocar en un daño a órganos remotos cuando esta reacción es desmesurada, se trataría de esta forma de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Éste es capaz de provocar el fallo de diversos órganos desarrollando finalmente un fallo multiorgánico: pulmón (suele debutar con insuficiencia respiratoria en las primeras 24-72 h. postreperusión, y puede llegar a un síndrome de distrés respiratorio), luego sigue el fallo hepático, renal, gastrointestinal, miocárdico y del sistema nervioso central (17).

Cardiovascular: hipotensión, arritmias (FV, TV, ritmo idioventricular), disminución de la respuesta a vasopresores, cambios en la distribución del flujo sanguíneo.
Pulmonar: hipoxia, SDRA, edema pulmonar.
Renal: IRA, uremia, acidosis metabólica.
Gastrointestinal: alteraciones de motilidad, absorción, permeabilidad mucosa intestinal y traslocación bacteriana.
Hígado: isquemia por repercusión postrasplante de hígado (aumento severo de transaminasas, hipotensión).
Musculoesquelético: edema, mioglobinuria.
Metabólico: hipercalcemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia.
SNC: Aumento PIC, edema cerebral, deterioro motor, sensitivo y cognitivo.

Figura 5. Manifestaciones clínicas sistémicas de la lesión por IR.

1.4 PREVENCIÓN DE LA LESIÓN DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN:

1.4.1 Generalidades

El manejo clínico del síndrome IR tiene como elemento más importante la prevención de la reperfusión abrupta del tejido isquémico o hipo-perfundido, para evitar la masiva producción y liberación al torrente sanguíneo de los radicales libres generados durante la re-oxigenación, y de esta manera permitir que los agentes naturales antioxidantes los neutralicen. Para lo anterior, se requiere realizar una reperfusión controlada de los tejidos afectados por la isquemia para permitir una re-oxigenación controlada y una consecuente producción limitada de agentes oxidantes.

Se puede teóricamente actuar en cuatro frentes terapéuticos para minimizar el daño por IR. A este respecto, han sido utilizados tanto en estudios experimentales como en ensayos clínicos, una gran cantidad de fármacos de los cuales solo vamos a citar los más significativos:

1. **Control de la producción de RLO:** esto implica bloquear algunas de las vías de producción como por ejemplo con alopurinol, un inhibidor de la xantina oxidasa utilizado con éxito para el

tratamiento de la gota en las personas. Se han realizado estudios experimentales que muestran efectos muy positivos cuando se administra previo a la isquemia, pero los resultados en cuadros clínicos tanto en humanos como en animales no son muy consistentes. Las dosis recomendadas en la literatura son de 10 a 25 mg/kg (25). Otro de los fármacos empleados en el tratamiento de la hiperuricemia y gota, con buenos resultados en estudios para disminuir el acúmulo de hipoxantina es el febuxostat (28).

2. Inhibición de la activación y migración de polimorfonucleares: También en este caso el uso de corticoides antes de la isquemia muestra resultados positivos, pero no así los estudios clínicos en humanos (87). Las drogas y dosis más utilizadas son:

Dexametasona 6-15 mg/Kg. I/V, Prednisona: 20 mg/Kg. I/V, Prednisolona : 10-30 mg/Kg, I/V, Hidrocortisona: 20-30 mg/Kg, I/V.

3. Atrapamiento de los RLO en el torrente sanguíneo: Para esto se utilizan los denominados “Scavenger”, pero deben ser administrados en infusión rápida entre 1 y 5 minutos post-reperfusión para atraparlos cuando aun están en la sangre antes que difundan hacia los tejidos. Los más citados son : manitol (1-2 ml/kg en bolo) (88) y dimetil sulfoxido en una solución al 25% en suero salino a razón de 2 ml/Kg en infusión rápida (89). Estos han mostrado una buena respuesta tanto en modelos experimentales como clínicos, pero el uso de dimetil sulfoxido ha sido totalmente restringido en medicina humana por haberle detectado efectos pro-cancerígenos en estudios experimentales en ratas (90).

4. Aumentar la capacidad antioxidante del organismo: Para esto se preconiza la administración de:

- Vitamina E hasta 1/2 hora post Reperfusión en dosis de 10-50 µg/Kg. Vitamina C que permite la restauración de la capacidad antioxidante de la vitamina E y por ser hidrosoluble puede ser administrada I/V, aunque recientemente su utilidad está siendo fuertemente discutida por actuar en altas dosis como pro-oxidante en condiciones de isquemia. Los estudios clínicos tampoco son

muy concluyentes en relación a su utilidad aunque en estudios experimentales si muestran beneficios (91).

El uso de enzimas como la superoxido dismutasa y catalasas ha mostrado excelentes resultados experimentales cuando la administración se produjo antes de la isquemia, pero no en ensayos clínicos ya que su vida media es apenas de 6-8 minutos. Además es de elevado coste y pueden provocar reacciones anafilácticas (92).

1.4.2 Mecanismos protectores

1.4.2.1 Soluciones de preservación

La solución LPD-Glucosa (Perfadex®) es la solución que se asocia a una tasa más baja de disfunción primaria del injerto, además permite tiempos de isquemia fría de hasta 12 horas. Se recomienda la administración de un bolo i.v de corticoides y PGE1 al donante. También se recomienda la administración de PGE1 con la solución de perfusión. Se sugiere la administración de un volumen de prefundido de 50-60 cc/kg a una presión inferior a 10-15 mmHg y una temperatura de 4°C. El pulmón se ha de ventilar con presiones de 10-15 mmHg y FiO2 no mayor de 0.5. Finalmente es necesaria la perfusión retrógrada de la solución además de la perfusión anterógrada habitual, ya que se ha demostrado una mayor limpieza de la microcirculación (93). El principal inconveniente de esta solución de preservación es su alto coste económico.

La solución de Wisconsin, que fue diseñada en 1967 por Welter, contiene ATP, glutation, alopurinol e insulina, y no contiene glucosa. Además incorpora el lactobionato que actúa como estabilizador de membrana y captura RLO. Como fuente nutritiva contiene resinoso. La solución de Wisconsin previene de la acidosis intracelular y del edema celular e intersticial. No produce tanta depleción de ATP como otras soluciones (94).

1.4.2.2 Quelantes del hierro

La desferroxamina se ha empleado con gran éxito en estudios experimentales y con menos en la práctica clínica. En cerdos ha demostrado disminuir las lesiones pulmonares post-reperfusión, mejorando parámetros histológicos e incluso funcionales, con una mejoría en la PO₂ en el grupo tratado con desferroxamina (95).

1.4.2.3 Inhibidores del complemento

Se ha utilizado con éxito el inhibidor del receptor 1 del complemento, que inhibe la activación de C3a y C5a convertasas, para bloquear la cascada de activación del complemento. Esto se ha manifestado en disminución de los días de ventilación mecánica en pacientes sometidos a trasplante pulmonar (96).

1.4.2.4 Inhibidores de moléculas de adhesión

Sus resultados son fundamentalmente experimentales, pero la pentoxifilina protege del daño pulmonar agudo inhibiendo la síntesis y expresión de moléculas de adhesión como la ICAM-1 (97-98).

1.4.2.5 Surfactante pulmonar

Existen numerosos estudios que demuestran que diversas moléculas alteran o inhiben la síntesis de surfactante pulmonar, especialmente en los fenómenos de IR, y esto guarda relación directa con el daño pulmonar y el distrés respiratorio del adulto (53, 99-100). Así la administración exógena de surfactante especialmente antes de la IR, podría disminuir este daño producido por la IR (101-102).

1.4.2.6 Precondicionamiento: Isquémico y anestésico

Tanto el preconditionamiento isquémico ó mecánico como el farmacológico entre el que destaca el anestésico, protegen del daño de IR en diversos órganos (103-104).

1.4.3 Gases halogenados. Precondicionamiento anestésico:

1.4.3.1 Generalidades

El sevoflurano, es un líquido volátil, derivado fluorado del metil-isopropil-éter que contiene siete átomos de flúor (halógeno). Es incoloro, tiene un olor agradable y no es irritante, por lo que se puede administrar con mascarilla como inductor anestésico especialmente en niños.

Su solubilidad no se modifica con la edad. Al igual que los demás anestésicos inhalatorios es muy poco soluble en agua, muy soluble en grasa y muy poco soluble en sangre. Su coeficiente de partición sangre/gas es de 0,62 (105). Debido a su escasa solubilidad en sangre, la relación de la concentración alveolar inspirada aumenta rápidamente con la inducción (captación) y también disminuye rápidamente al cesar la administración del agente (eliminación). Su coeficiente de partición aceite/gas es de 53.

La CAM (concentración alveolar mínima) del sevoflurano es la que más varía con la edad (disminuye con la edad y es mayor en niños). El valor de la CAM es de 2%, que se reduce a la mitad si se asocia con óxido nitroso al 60% (106).

El punto de ebullición del sevoflurano es de 58.5 y su presión de vapor es de 157, por lo que se puede administrar con vaporizadores convencionales (107-108).

El sevoflurano se degrada con los absorbentes de CO₂ altamente alcalinos, la cal sodada y el Baralyme, dependiendo de la temperatura, en cinco productos denominados compuestos A, B, C, D y E. A temperatura normal sólo se produce el compuesto A y B, siendo B un compuesto de degradación del A. Aunque el compuesto A es nefrotóxico en experimentación animal (ratas) ocasionando lesión del túbulo proximal, en humanos no se han comprobado ningún tipo de lesión (109).

Se elimina por vía pulmonar y a través del riñón en forma de metabolitos en un 2-3%. Se metaboliza en el hígado a través del citocromo p-4502E1, siendo los productos metabólicos más importantes el ion flúor y el hexafluoroisopropanolol.

Farmacodinámica:

- a) Los efectos hemodinámicos y cardiovasculares: del sevoflurano son los siguientes: Ejerce un efecto inotrope negativo, que es el resultado de la inhibición de la actividad simpática, sin que se modifique la parasimpática. No modifica la frecuencia cardíaca, mientras que la presión arterial disminuye dependiendo de la CAM. Asimismo, reduce el gasto cardíaco pero no modifica las resistencias vasculares sistémicas. Por último, no sensibiliza el miocardio al efecto de las catecolaminas.

Sevoflurano y vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH): La VPH es una respuesta fisiológica a la hipoxia aguda que ayuda a mantener una adecuada PO_2 . La circulación pulmonar responde a la hipoxia/atelectasia con un incremento en las resistencias vasculares pulmonares (110), a diferencia de la circulación sistémica que responde con vasodilatación. La respuesta se inicia segundos después de la exposición a la hipoxia, manteniéndose por minutos o hasta horas (111) de acuerdo a la intensidad del estímulo (los niveles necesarios para desencadenar la respuesta oscilan alrededor de una presión alveolar de 60 mm Hg) con cambios fisiológicos como el incremento de la frecuencia respiratoria y de la presión de la arteria pulmonar y con cambios variables en la presión auricular izquierda, la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco (112). La VPH está preservada en pulmones aislados e incluso en los pulmones trasplantados en humanos, indicando la falta de dependencia de los mecanismos neurohumorales (113). Los sensores por medio de los cuales se detecta la disminución en el contenido de oxígeno, clásicamente reconocidos, son las células musculares lisas que producen vasoconstricción

inmediata, el glomus celular del cuerpo carotídeo liberando dopamina y los cuerpos neuroepiteliales que secretan en forma rápida y organizada serotonina que va a ser la directa implicada en la generación de corrientes iónicas a través de las membranas celulares favoreciendo el influjo de calcio y la salida de potasio (114). La VPH es pues un método de adaptación para redistribuir el flujo de áreas pobremente ventiladas, a otras que lo están mejor, para conseguir una mejor relación V/Q, minimizando la hipoxemia. Generalmente estas zonas corresponden a los ápices pulmonares con el reclutamiento de capilares alveolares, considerando la menor perfusión con relación a las bases, consecuencia de la menor presión pulmonar por el efecto de la gravedad. No están claro los mediadores que generan esta respuesta a nivel celular, además, llama la atención, cómo en los extremos de la hipoxia, la VPH es ineficiente y los mismos mediadores pueden tener respuestas variables. Hay varios estudios que demuestran que el sevoflurano no altera este mecanismo a nivel de la vascularización pulmonar in vivo (115). Sin embargo estudios in vitro ponen de manifiesto una inhibición de la VPH concentración dependiente (116).

- b) A nivel del aparato respiratorio: el sevoflurano deprime la respiración de forma dosis dependiente. Sin embargo, la principal característica de los efectos respiratorios del sevoflurano es que produce una buena tolerancia a la inducción inhalatoria, tanto en niños como en adultos, que se debe sobre todo a su olor agradable y a que prácticamente no produce efectos irritativos de las vías aéreas.
- c) A nivel del sistema nervioso central: deprime la actividad electroencefalográfica de forma dosis dependiente y no provoca actividad convulsiva. No modifica los mecanismos de autorregulación cerebral, pero produce depresión de la función cortical y un aumento discreto de la presión intracraneal.

- d) En cuanto a los efectos neuromusculares se ha observado que potencia el efecto de los relajantes musculares de forma similar a los demás anestésicos halogenados.
- e) A nivel hepático reduce muy poco el flujo hepático total y, al menos teóricamente, es menos hepatotóxico que el halotano.
- f) A nivel renal se ha comprobado que no modifica el flujo sanguíneo renal, siempre y cuando la tensión arterial media se mantenga por encima de 70mmHg. Existe controversia sobre la potencial nefrotoxicidad del sevoflurano, que se ha observado en animales de experimentación. Aunque se han detectado niveles elevados de flúor en algunos pacientes anestesiados, se sabe que la nefrotoxicidad del flúor no se relaciona con los valores pico sino con la superficie de la curva de los niveles plasmáticos de flúor. El sevoflurano se elimina rápidamente por vía respiratoria, la metabolización es menor y, por tanto, la superficie de dicha curva es más pequeña (106).

En conclusión, sevoflurano es un anestésico halogenado con un coeficiente de solubilidad bajo en sangre, lo que le confiere rapidez en la inducción anestésica y en el mantenimiento. Sin embargo, su solubilidad en tejidos, y especialmente en las grasas, explica su retraso en el despertar. El hecho de que produzca una inducción inhalatoria muy agradable explica su amplio uso en pediatría. Tiene escasos efectos hemodinámicos, por lo que es muy útil en pacientes con cardiopatía, y no se ha mostrado nefrotóxico en humanos.

1.4.3.2. Precondicionamiento anestésico:

El concepto de precondicionamiento data desde 1986, cuando Murry y colaboradores observaron que en el corazón, períodos breves de isquemia y posterior reperusión protegían del daño isquémico disminuyendo hasta en un 25% el tamaño del infarto (103). A partir de ahí son numerosos los estudios y las líneas de investigación que se desarrollan en este sentido. Es el llamado precondicionamiento isquémico. En condiciones normales los canales de potasio

dependientes de ATP (KATP) en el miocardio están cerrados porque las concentraciones de ATP son muy altas. Durante un episodio de hipoxia estos canales se abren y permiten la salida de potasio al exterior y a su vez aminoran la entrada de calcio lo que disminuye la contractilidad y la demanda de oxígeno; por todo esto, breves períodos de isquemia hacen al corazón más resistente a eventos subsiguientes (117). El preconditionamiento es un fenómeno bifásico: existe una primera etapa que se desarrolla pocos minutos después de los estímulos isquémicos y que desaparece luego de 2 a 3 horas (preconditionamiento temprano ó clásico) y una segunda etapa que se inicia dentro de las 12 a 24 horas posterior a la isquemia y que puede durar desde 72 a 96 horas (preconditionamiento tardío). Posteriormente se investigaron otras formas de preconditionamiento mediante fármacos, independientes del isquémico. Estos fármacos desarrollaban las mismas señales intracelulares y obtenían una adaptación celular similar. Surge así el preconditionamiento anestésico que, como característica particular, se dice que es dosis dependiente.

Así pues las características del preconditionamiento son:

- Memoria celular: En estos casos el miocardio actuaba como si “recordara” la exposición al agente inhalado.
- Respuesta adaptativa celular en contra de los efectos de la isquemia.
- Dosis dependiente (118).
- Existe preconditionamiento precoz y tardío.

Los anestésicos halogenados han sido ampliamente estudiados por sus efectos sobre el organismo. A este respecto, en un primer momento se pensaba que estos eran deletéreos porque provocaban un desbalance (“robo coronario”) entre el aporte y la demanda miocárdica de oxígeno, aumentando así el daño durante cirugía cardíaca o periodos de isquemia coronaria. Sin

embargo han sido muchos los estudios que han demostrado que estas hipótesis no son ciertas sino todo lo contrario.

Se ha demostrado que tanto el halotano como el isoflurano reducen el tamaño de los infartos en perros, y que estos efectos persistían incluso tras suspender su administración (119).

A su vez, el isoflurano y el sevoflurano mediante un mecanismo dosis-dependiente aseguran la viabilidad de miocitos aislados durante la isquemia (104). Todo esto hacía pensar que este grupo de agentes volátiles gozaba de características que proferían un comportamiento a los tejidos similares a los del preconditionamiento (preconditioning-like).

Los mecanismos precisos por los que los halogenados protegen a los tejidos del daño IR han sido ampliamente estudiados, y parece estar claro que no se debe exclusivamente al mejor balance entre aporte y demanda de oxígeno a los tejidos (efecto que consiguen por los cambios hemodinámicos, del metabolismo miocárdico y en la generación de circulación colateral).

A nivel miocárdico, el sevoflurano (y otros halogenados) actúa sobre los canales de K^{+} ATP (mitocondrial y sarcolémico) y/o sobre la membrana celular. De esta manera provoca una señal intracelular mediada por la familia de la proteína G, que a su vez activará a la proteinkinasa C que finalmente actuará sobre la mitocondria. Este proceso celular lleva finalmente a la apertura de los canales de K^{+} ATP (120). Además, tiene un efecto a largo plazo, reduciendo la sensibilidad de estos canales para cerrarse por ausencia de ATP, aumentando así la probabilidad de que permanezcan abiertos (121).

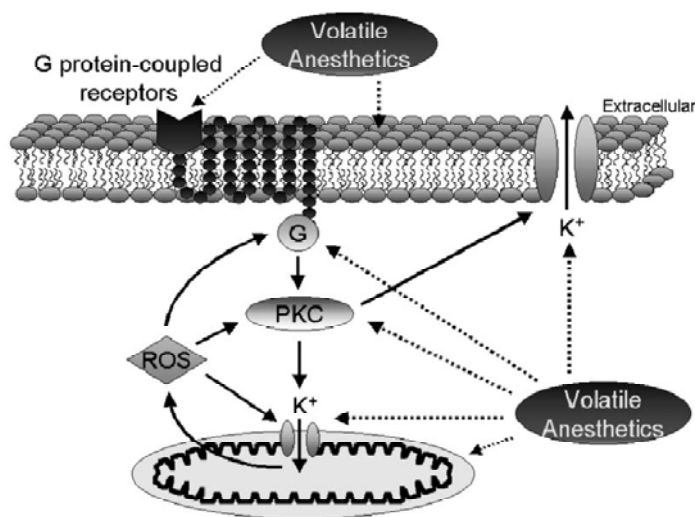


Figura 6. Mecanismo de acción del preconditionamiento de los agentes volátiles.

Esta apertura de los canales de K dependientes de ATP va a provocar en el músculo liso de los vasos coronarios una vasodilatación, lo que va a mejorar el aporte de oxígeno, y en cierto modo protege durante la isquemia cuando la producción de ATP se ve reducida (122). Además el sevoflurano induce un incremento de la circulación colateral mediado por los canales de K calcio dependientes (123).

Otros efectos beneficiosos de los halogenados en los procesos de IR son la disminución en la formación de RLO durante los procesos de reperfusión. Esto ha sido ampliamente estudiado en el miocardio. Grandes cantidades de RLO son liberadas en la reperfusión cardíaca, provocando alteraciones en la homeostasis intracelular, depresión miocárdica y daño en la membrana celular entre otros (124). Existen varios estudios en miocardio, que muestran una disminución en la formación de radicales libres de oxígeno tras la oclusión y reperfusión coronaria usando halogenados, protegiendo así del daño IR (125). Sin embargo, el mecanismo por el cual sucede esto no es bien conocido.

Además de los numerosos estudios en miocardio, se han demostrado propiedades citoprotectoras del sevoflurano en otros órganos: efectos antiinflamatorios y antinecróticos del sevoflurano en células del túbulo proximal renal in vitro tras ser sometidas a una lesión isquemia-reperfusión (126); protección ante la lesión isquemia-reperfusión en hígado de ratas (127); propiedades neuroprotectoras, consiguiendo reducir el daño celular neuronal y la expresión de factores apoptoicos tras el fenómeno isquemia-reperfusión cerebral (128).

En el caso del pulmón, la mayoría de trabajos que describen efectos citoprotectores de los halogenados en la IR pulmonar se refieren a modelos in vitro (129-130).

En resumen, el síndrome de isquemia reperusión es una entidad clínica bien definida, que condiciona la viabilidad de tejidos y órganos y, en consecuencia, la supervivencia de los pacientes. Existen diversas situaciones clínicas en las que se produce isquemia-reperfusión pulmonar con potenciales graves consecuencias que han intentado ser prevenidas o tratadas con diferentes procedimientos y tratamientos. Ninguno de estos métodos es suficientemente satisfactorio por lo que se sigue buscando la forma más adecuada de prevenir el daño pulmonar por isquemia reperusión. El preconditionamiento con sevoflurano ha demostrado ser eficaz en la minimización de los efectos de la lesión por IR en diversos órganos, por tanto cabe esperar que en el pulmón tenga ciertos efectos citoprotectores que conlleven una mejor función pulmonar en los procesos de IR.

2. HIPÓTESIS. OBJETIVOS.

2. HIPÓTESIS. OBJETIVOS.

❖ HIPÓTESIS PRINCIPAL:

El daño producido por la lesión de IR pulmonar puede ser modulado mediante preconditionamiento anestésico con halogenados.

❖ HIPÓTESIS SECUNDARIAS:

- 1) El procedimiento experimental de autotrasplante lobar en cerdo constituye un modelo de IR pulmonar en el que es posible estudiar el efecto modulador del preconditionamiento anestésico.
- 2) El preconditionamiento anestésico con sevoflurano puede modular la respuesta pulmonar y sistémica al daño por IR pulmonar.
- 3) Este efecto modulador del preconditionamiento con sevoflurano puede observarse, desde los primeros momentos de la reperfusión, en la respuesta hemodinámica sistémica y pulmonar.
- 4) Este efecto modulador del preconditionamiento con sevoflurano puede observarse, desde los primeros momentos de la reperfusión, en los valores de los parámetros gasométricos.

5) Este efecto modulador del preconditionamiento con sevoflurano puede observarse, desde los primeros momentos de la reperfusión, en la respuesta bioquímica en tejido pulmonar a nivel de mediadores de la inflamación, estrés oxidativo y del metabolismo del óxido nítrico.

❖ **OBJETIVO PRINCIPAL:**

Estudiar el papel modulador del preconditionamiento anestésico con sevoflurano sobre los efectos pulmonares y sistémicos de la IR en un modelo porcino de autotrasplante pulmonar.

❖ **OBJETIVOS SECUNDARIOS:**

- 1) Comprobar los efectos del preconditionamiento anestésico con sevoflurano sobre la respuesta hemodinámica sistémica y pulmonar provocada por la lesión de IR pulmonar en un modelo experimental en cerdos.
- 2) Valorar los cambios que el preconditionamiento anestésico con sevoflurano provocan sobre el intercambio gaseoso durante la isquemia pulmonar y durante la reperfusión precoz (10 y 30 minutos).
- 3) Estudiar los efectos que el preconditionamiento anestésico con sevoflurano provocan sobre la respuesta inflamatoria, estrés oxidativo y del metabolismo del óxido nítrico secundarios a la isquemia pulmonar y la reperfusión precoz (10 y 30 minutos) del injerto en un modelo experimental de IR pulmonar.
- 4) Valorar nuevos métodos de preservación de órganos (pulmón) para trasplantes.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 RESUMEN

En veinte cerdos de la raza Large-White se realizó un procedimiento de autotrasplante pulmonar ortotópico mediante neumonectomía izquierda, lobectomía craneal ex – situ, reimplantación del lóbulo caudal y reperfusión del mismo durante 30 minutos. Durante el procedimiento se analizaron diferentes parámetros hemodinámicos, gasométricos y bioquímicos para el estudio del síndrome de isquemia-reperfusión pulmonar.

3.2 MATERIALES

3.2.1. Material biológico: animales

Se han utilizado 20 cerdos de raza Large White con un peso medio de 42 ± 13.8 kg. Estos animales pertenecen a una línea desarrollada por Sachs en el Instituto Nacional de la Salud en Bethesda, Maryland, EE.UU como modelo animal para la investigación en trasplante de órganos, mediante la selección de tres genotipos homocigotos independientes en relación con el complejo mayor de histocompatibilidad (131).

Los animales proceden de la granja que el Instituto Tecnológico de Desarrollo Agrario (ITDA) de la Consejería de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid posee en el Complejo Agropecuario de Aranjuez (finca "La Chimenea"). El ITDA es un establecimiento autorizado inscrito con el número EX 013-C en el Registro Oficial de Establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales para la experimentación y otros fines científicos de la Comunidad de Madrid según la Orden de 4 de agosto de 1989 (BOCM de 24 de agosto). En este centro los cerdos se alojan en instalaciones construidas específicamente para ganado porcino, similares a las de una granja convencional, que garantizan su bienestar. El traslado del cerdo

desde la granja de Aranjuez hasta las instalaciones de la UMCE se realiza 24 h antes del procedimiento quirúrgico, en una jaula individual en la que permanece el animal hasta el momento de la intervención. El animalario dispone de un ambiente controlado con 20-22 °C y humedad relativa del 55%.

El manejo de los animales se ha llevado a cabo siguiendo la normativa legal según el Real Decreto 1201/2005, de 10 de Octubre, BOE de 21 de Octubre de 2005 Animales, protección de los utilizados para experimentación y otros fines científicos (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación) que incorpora las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los estados miembros de la CEE respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, de la Directiva del Consejo 86/609/CEE (Leg. CC.EE. 4390) aprobada el 24 de Noviembre de 1996.



Figura 7. Imagen del quirófano en el momento de la inducción anestésica.

El estudio se ha realizado en la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, con nº de registro: EX/017-U. Fue concedida la aprobación del Comité de Experimentación Animal y del Comité de Investigación de la institución.

Tabla 1. Distribución de Pesos en Kg.

Peso grupo control	Peso grupo sevoflurano
50,00	48,00
45,00	30,00
35,00	35,00
22,00	22,00
65,00	40,00
30,00	27,00
53,00	63,00
45,00	50,00
70,00	35,00

3.2.2. Aparatos y Material Fungible

3.2.2.1 Transductores de presión: Transductores de presión desechables Abbott IBP (Abbott, Irlanda), para monitorizar las variables hemodinámicas del animal (Presión Arterial y Pulmonar, PVC).

3.2.2.2 Fungibles de anestesia:

-Tubo endotraqueal: Para la intubación orotraqueal se utilizó un tubo estándar del nº 5,5 al 7, dependiendo del peso del espécimen, modelo Murphy con balón.

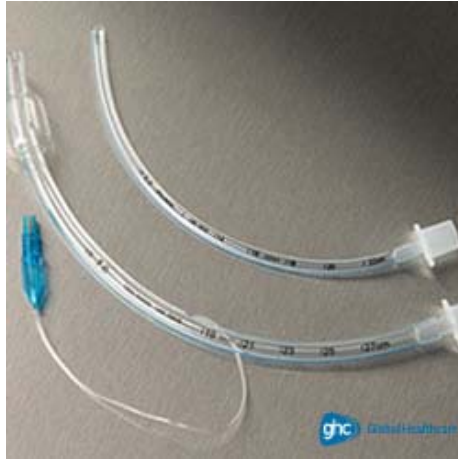


Figura 8. Tubos endotraqueales de Murphy.

-Catéteres vasculares: Se utilizan mediante técnica de Seldinger para canalizar las arteria y vena femorales (9 y 7,5 F respectivamente).



Figura 9. Catéteres vasculares.

- **Catéter de Swan-Ganz o catéter de arteria pulmonar (CAP):** Este dispositivo fue diseñado a principios de los setenta por los doctores William Ganz y Jeremy Swan. La utilidad inicial del catéter fue el tratamiento y la monitorización de los infartos agudos de miocardio. El Swan-Ganz nos permite monitorizar de forma continua la Presión en la arteria pulmonar, también permite adquirir de forma continua la Saturación Venosa mixta SV02 (en la punta del

catéter, alojada en las ramas lobares pulmonares) que se relaciona íntimamente con la situación respiratoria, con la hemoglobina del enfermo y con el gasto cardíaco (si el gasto es bajo, hay mucho consumo periférico de O₂ y la sangre regresa muy desaturada al corazón derecho). Los valores normales de SVO₂ oscilan entre 40-60%.

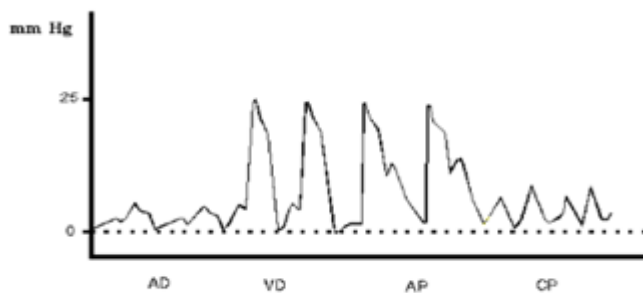


Figura 10. Curva de presión del Swan-Ganz.

Otra de las utilidades principales de este dispositivo es la estimación del gasto cardíaco por termodilución. Para ello dispone de una pequeña resistencia en su porción proximal que calienta la sangre a una determinada temperatura, por otro lado el catéter mide la temperatura de la sangre en la punta del Swan y, mediante una fórmula matemática, obtiene el gasto cardíaco y el índice cardíaco (gasto ajustado a superficie corporal). La última utilidad es la medición de la Presión de enclavamiento o Presión Capilar pulmonar (PCP) que es equivalente a la presión en aurícula izquierda. Esta presión es muy útil pues nos permite valorar la situación de precarga del enfermo, su función ventricular, la función de la válvula mitral (Ondas V en la curva y PCP alta) y es de gran utilidad para confirmar el Edema Agudo de Pulmón. El catéter de Swan-Ganz más utilizado es el de arteria pulmonar de triple conducto o termodilución. Está fabricado con material flexible, con posibilidad de hacerse más flexible por la temperatura de la sangre. Su

longitud en el tamaño 7 es de 110 cm. En su extremo se encuentra el balón de látex, cuyo inflado tiene dos funciones durante la inserción: (Figura 11)

1. facilitar la progresión del catéter en el sentido de la corriente sanguínea.
2. reducir el riesgo de lesionar cavidades y de inducir arritmias. Posteriormente, una vez colocado el catéter en una rama de la arteria pulmonar, el inflado del balón va a permitir la obstrucción voluntaria del flujo en esa rama y la determinación de presiones distales a la obstrucción.

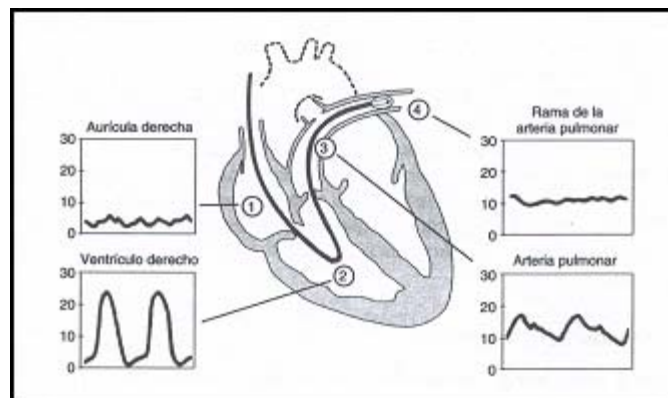


Figura 11. Recorrido del CAP con las presiones correspondientes.

El catéter consta de los siguientes conductos:

- Conducto pequeño: sirve para el inflado y desinflado del balón, cuya capacidad es de 1,5 ml de aire.
- Conducto proximal: desemboca en la aurícula derecha a 30 cm del extremo distal del catéter. Sirve para determinar la presión auricular derecha y para inyectar suero en las determinaciones del volumen minuto cardíaco.

- Conducto distal: desemboca en una rama de la arteria pulmonar. Sirve para determinar las presiones sistólicas, diastólicas y media de la arteria pulmonar y también la PCP, una vez obstruido el flujo sanguíneo en la rama de la AP en la que está colocado.
- Conducto que contiene las guías eléctricas del termistor, desemboca a 4 cm del extremo distal del catéter; en su punta está el termistor. Este conducto se conecta a un computador de cálculo, para la determinación numérica del volumen minuto cardíaco por termodilución.

En nuestra experiencia usamos un catéter de Swan-Ganz Edwards de 7,5-F para monitorización continua del Gasto Cardíaco (Edwards, Irving, California, USA) (figura 12).

Existe además toda una serie de material suplementario:

- un catéter introductor de mayor diámetro (8.5 o 9 French). Se le acopla una funda protectora para facilitar la entrada, retirada o eventual recolocación del CAP. Limita asimismo el riesgo de infección. Se recomienda no mantener el introductor en ausencia del CAP, por riesgo de embolia gaseosa y de perforación vascular.
- material para medición de presiones: alargaderas, conexiones rígidas y sistemas transductores de presión conectados a un monitor. Deben verificarse siempre antes del inicio de cada medida, y siempre que existan dudas respecto al trazado o los datos numéricos registrados. Deben calibrarse los transductores y comprobar la ausencia de burbujas de aire que puedan amortiguar la transmisión de las presiones. Asimismo, deben limitarse al máximo las conexiones y la longitud de los catéteres alargadera.
- monitores el registro de presiones y de la curva de termodilución. Hoy en día incluyen el *software* necesario para el cálculo directo de los parámetros hemodinámicos derivados.

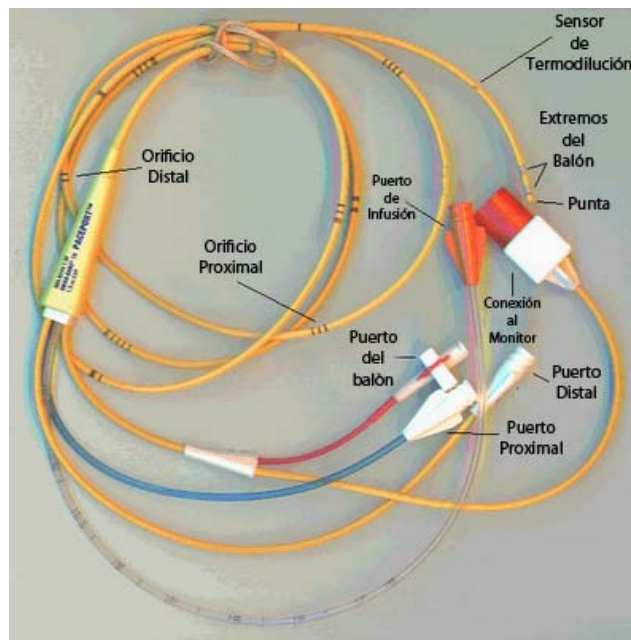


Figura 12. Catéter de Swan-Ganz.

Las condiciones de validez de la presión de enclavamiento pulmonar son:

- la acción de inflar y desinflar el balón debe hacer aparecer las curvas de PCP y de PAP, respectivamente.
- la morfología de la curva de PCP debe ser la de una curva de presión auricular, con sus dos ondas características “a” y “v”.
- el valor medio de la PCP debe ser igual o inferior a la PAP diastólica, salvo si existe una onda “v” de regurgitación mitral, o si el paciente presentaba una hipertensión pulmonar.
- la sangre extraída de la luz distal del catéter con el balón hinchado debe cumplir:
 - 1.- la pO_2 de enclavamiento sea superior en al menos 19 mmHg a la pO_2 arterial,
 - 2.- la pCO_2 de enclavamiento sea inferior en al menos 11 mmHg a la pCO_2 arterial,
 - 3.- el pH de enclavamiento sea superior en al menos 0.008 al pH arterial.
- El balón debe siempre quedar desinflado mientras está en la arteria pulmonar. Su hinchado se reserva para el momento puntual de medición de la PCP. No debe permanecer continuamente registrada la PCP. Cuando se hincha el balón para conseguir la PCP, no siempre hay que hacerlo completamente: a veces con menor volumen se consigue ya un trazado adecuado. Todas estas medidas de precaución ayudarán a disminuir el riesgo de infarto pulmonar.

- Una vez correctamente colocado el CAP, la luz proximal queda a nivel de la aurícula derecha, y la luz distal de la arteria pulmonar, pudiéndose registrar de forma continua estos dos trazados.

3.2.3 Quirófano e Instalaciones:

Todos los experimentos fueron realizados en el quirófano de la unidad de cirugía experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (figura 13).



Figura 13. Vista panorámica del quirófano.

Dicho quirófano incluye dos mesas quirúrgicas que permiten movilidad en todos los planos del espacio, cuatro lámparas quirúrgicas de alta intensidad y equipo de instrumental quirúrgico estándar así como material específico de cirugía torácica (figura 14).

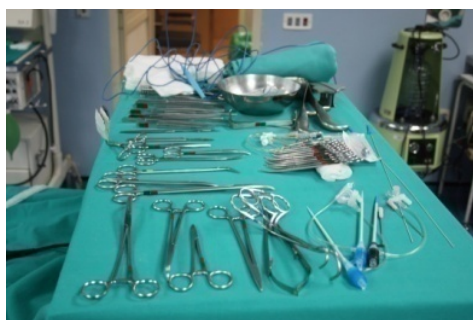


Figura 14. Mesa de instrumental quirúrgico.

En cuanto al material anestésico, el quirófano está equipado con un respirador modelo Dräger SA 1 (Dräger Medical AG, Lübeck, Alemania) (figura 17), Capnógrafo Ohmeda 5250 RGM (General Electric Health Care, USA) (figura 16), analizador de Gases GEM Premiere 5000 (figura 18), Monitor de Swan-Ganz Gasto Continuo (Edwards, Irving, California, USA) y desfibrilador con palas Externas e Internas life pulse (HVE, Miami, USA) (figura 15).

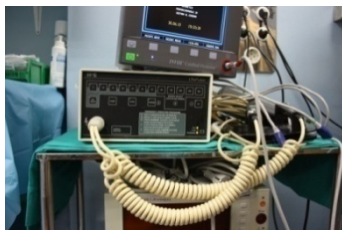


Figura 15. Life Pulse.



Figura 16. Capnógrafo Ohmeda.



Figura 17. Respirador SA1 Dräger.



Figura 18. Analizador de gases GEM Premiere.

3.3 MÉTODOS

3.3.1. Procedimiento Quirúrgico

- **Protocolo anestésico:** Inicialmente el cerdo es premedicado con ketamina (“Ketolar”, Parker Davis) 20 mg/kg intramuscular y atropina 0,04 mg/kg intramuscular. Posteriormente, se canaliza una vena en la oreja (abbocath nº 20) (figura 19) y se monitoriza al animal mediante ECG continuo y pulsioximetría (Sat O₂).



Figura 19. Canalización de vía periférica.

La inducción anestésica se realiza con fentanilo (“Fentanest”, Kern Pharma) 2,5 µg/kg intravenoso, propofol (“Diprivan”, AstraZeneca Farmacéutica, Madrid, España) 2 mg/kg intravenoso, atracurio (“Tracrium” Glaxo Smith Kline) a 0,6 mg/kg y se procede a la IOT (tubo nº 5,5-7) (figura 20). Se conecta a ventilación mecánica controlada a un respirador Dräger SA1, administrando una FiO₂ de 1 y 8-10 ml/kg de volumen corriente para mantener normocapnia (etCO₂ entre 35- 40 mmHg).

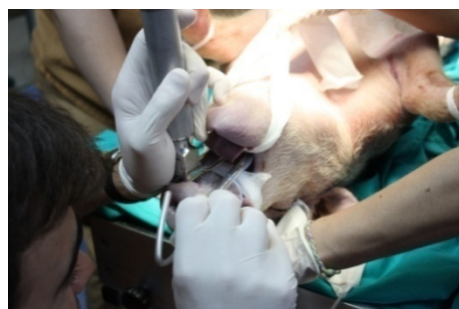


Figura 20. Intubación orotraqueal.

El mantenimiento anestésico se realiza con Fentanest 2,5 µg/kg/h, Propofol 11-12 mg/kg/h y Atracurio 0,3 mg/kg/30 min. Se canalizan la arteria femoral derecha (9-F) y la vena femoral derecha (7,5 F), y se introduce un catéter de arteria pulmonar (7,5-F catéter de termodilución, Edwards, Irving, California, USA) para la medición del gasto cardíaco (GC). La técnica de canalización consiste en la disección del paquete vásculo-nervioso inguinal, individualizando la arteria y vena femorales (figura 21). Una vez disecados ambos vasos, se controlan los mismos con ligaduras, para posteriormente, canular la arteria y la vena con sendos introductores según la técnica de Seldinger.



Figura 21. Canalización quirúrgica de vías femorales.

- **Protocolo quirúrgico:** Antes de comenzar la intervención quirúrgica, son necesarios unos pasos previos. A los animales de experimentación se les lava la piel con una solución de povidona yodada previa a cualquier procedimiento invasivo, con el fin de conseguir la asepsia necesaria. Se lleva a cabo una traqueostomía infraístmica, retiramos el tubo endotraqueal e introducimos a través de la traqueostomía un tubo de 6 mm anillado. De este modo podremos avanzar este tubo hasta el bronquio intermediario derecho y bloquear el pulmón izquierdo para hacer posible la cirugía. Este paso es necesario, ya que los tubos endotraqueales disponibles no tienen longitud suficiente para bloquear el pulmón izquierdo desde la boca. Por otro lado, canalizamos la vena femoral e introducimos un catéter 7F en la arteria pulmonar derecha, lo que se confirma más tarde intraoperatoriamente. Gracias a este catéter, podemos realizar estudios hemodinámicos en diferentes momentos del experimento, como se expone más adelante.

Además es posible extraer muestras sanguíneas durante la cirugía. Se canaliza también la arteria femoral con otro catéter 7F, que utilizaremos para monitorizar de manera continua la presión arterial sistémica, así como para extraer y analizar muestras de sangre arterial.

El cerdo es un animal que posee una uretra en forma de sacacorchos, que impide su canalización con una sonda urinaria convencional, por lo cual es necesario realizar una cistostomía suprapúbica mediante minilaparotomía media. Gracias a ello se controla la diuresis horaria del animal a lo largo de la intervención.

Tras estos procedimientos preliminares, se coloca al animal en decúbito lateral derecho. La intervención quirúrgica propiamente dicha, comienza con la realización de toracotomía izquierda a través del cuarto espacio intercostal, con costectomía inferior. Se lleva a cabo la neumonectomía izquierda disecando previamente la vena ácigos, que impide la visualización del hilio pulmonar. Continuamos con la disección de la vena pulmonar craneal y la arteria pulmonar principal izquierda, hasta su origen en la bifurcación del tronco de la pulmonar. Seguidamente se secciona el ligamento pulmonar y se disecan el bronquio principal izquierdo y la vena pulmonar caudal. A continuación se secciona el bronquio principal izquierdo. Hasta este momento se trabaja con ventilación de ambos pulmones, pero a partir de este momento, el tubo endotraqueal se progresa hasta el bronquio derecho, comenzando en este momento la ventilación unipulmonar (se disminuye el volumen tidal a 6 ml/kg para realizar ventilación protectora pulmonar.) Una vez seccionado el bronquio izquierdo se ocluyen con pinzas la arteria pulmonar y la vena pulmonar caudal y se liga la vena pulmonar craneal. La arteria pulmonar izquierda se ocluye con una pinza protegida cerca de la bifurcación de la arteria pulmonar principal y se secciona distalmente dejando un margen de 5 a 10 mm para poder realizar la anastomosis arterial en el reimplante. La vena pulmonar craneal es ligada cerca de la aurícula y seccionada. Para completar la neumonectomía, la vena pulmonar del lóbulo caudal se pinza cerca de la desembocadura de la

vena del lóbulo mediastínico, se secciona a 1 o 2 mm de la pinza y se sutura con punto continuo de polipropileno 6/0 (“Prolene”, Ethicon, INC, Somerville, New Jersey, USA). Con esta maniobra se conserva la mayor longitud de vena del lóbulo caudal, lo que facilita la anastomosis venoauricular durante el reimplante. Para prevenir la trombosis de la arteria pulmonar que se mantiene pinzada durante la cirugía de banco y el reimplante, se realiza heparinización sistémica, 300 UI/Kg (Mayne Pharma España, S.L) en bolo en el momento de su oclusión.

A continuación, se procede a la cirugía de banco, realizando una lobectomía craneal. Se perfunde el injerto a través de arterias pulmonares (anterógradamente) y a través de las venas (retrógradamente) con 1 litro de solución de la Universidad de Wisconsin a 10-15 °C, mientras que a la vez se ventila el injerto con un ambú (FiO₂ 21%). Se lleva a cabo la lobectomía craneal ex - situ. El pedículo del lóbulo caudal que va a ser reimplantado lo constituyen la arteria pulmonar izquierda tras ligadura y sección de las ramas craneales, la vena pulmonar caudal liberada de adherencias pleurales hasta las ramas segmentarias y el bronquio principal izquierdo tras sección y sutura del bronquio craneal.

Finalmente, el lóbulo caudal es reimplantado mediante anastomosis bronquial con sutura continua de polipropileno 4/0, sutura arterial continua con polipropileno 5/0 y sutura venoauricular continua con polipropileno 6/0. El tubo anillado se retira hacia la tráquea permitiendo la ventilación del implante y su reperfusión se realiza primero de forma retrograda, despinzando la aurícula izquierda, y después anterógrada, despinzando la arteria pulmonar. La perfusión del lóbulo reimplantado se mantiene durante 30 minutos, tras los cuales se procede a la eutanasia del animal con profundización anestésica e inducción de cardioplejia con cloruro potásico.

3.3.2. Diseño experimental

Los 20 especímenes se dividieron en dos grupos de 10 cada uno en virtud del mantenimiento anestésico que reciben, siendo el resto de las intervenciones realizadas en ambos conjuntos idénticas; en el grupo control (CON) el mantenimiento anestésico se realiza con propofol

en perfusión continua (8-10 mg/kg/h) durante todo el procedimiento, mientras que en el grupo sevoflurano (SEV) se les administra sevoflurano al 3 % hasta el momento de iniciar la ventilación unipulmonar, momento en el que se inicia una perfusión continua de propofol hasta el final del experimento a las mismas dosis que en el grupo control. Además, en todos los grupos se emplean el fentanilo y el atracurio en bolos, según necesidades. Se infunde una solución intravenosa de ringer lactato a 6-8 ml/kg/h y, en los casos en que es necesario un mejor relleno vascular, se infunde además una sustancia coloide, hidroxietil almidón (“Voluven”, Fresenius Kabi, Alemania), según requerimientos.

3.3.2.1 Momentos de medición y toma de muestras (figura 22)

- ☐ Basal (BAS): se extraen muestras de sangre arterial, para analizar la gasometría arterial y se realiza un estudio hemodinámico treinta minutos tras la realización de la toracotomía, momento en el cual, el animal se encuentra bajo ventilación bipulmonar.
- ☐ Preclampaje (PREC): antes de completar la neumonectomía izquierda, se realiza un nuevo estudio hemodinámico, se extrae otra gasometría arterial y se extrae además una muestra sanguínea, una biopsia de tejido pulmonar y hepático (análisis bioquímico). En este momento el animal, ya permanece bajo la ventilación unipulmonar.
- ☐ Postclampaje (POSCL): A los 10 minutos del clampaje de la arteria pulmonar y de completar la neumonectomía izquierda, se realiza estudio hemodinámico y gasométrico.
- ☐ Pre-reperfusión (PRER): antes de reperfundir y ventilar el lóbulo caudal izquierdo, que ya ha sido reimplantado, se realiza otro estudio hemodinámico, se extrae una gasometría arterial y las muestras para análisis bioquímico.
- ☐ Postreperfusión (POSR): se realizan los mismos estudios 10 minutos después de reimplantar el lóbulo caudal y reperfundirlo.
- ☐ Postreperfusión 30 minutos (POSR30): se realizan los estudios a los 30 minutos de la

reperfusión del lóbulo caudal izquierdo antes de finalizar el experimento.

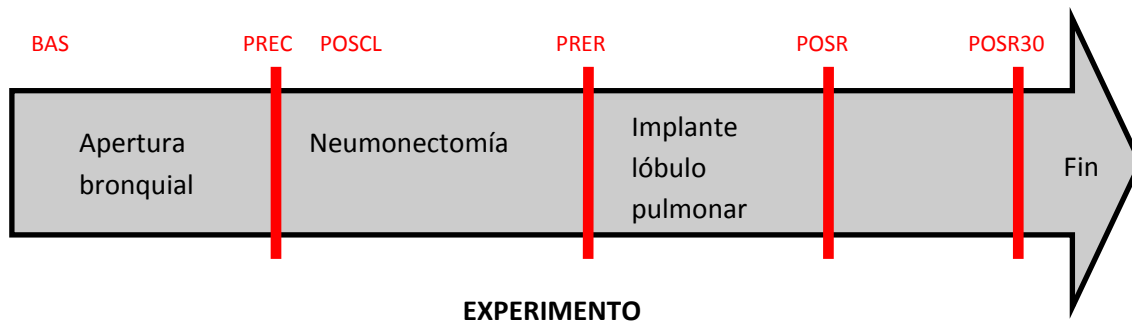


Figura 22. Esquema de los momentos más destacados del experimento. El texto en rojo representa los 6 momentos en los que se realiza estudio gasométrico y hemodinámico. Las líneas rojas verticales representan los momentos de recogida de muestras sanguíneas y de tejidos.

En los momentos anteriormente citados se van a determinar una serie de variables (tabla 2):

- Hemodinámicas.
- Gasométricas arteriales.
- Bioquímicas (en sangre y tejidos pulmonar y hepático).

Tabla 2. Momentos de recogida y tipo de muestras.

Momentos	Tipo de muestra			Muestra sanguínea
	Gasometría	Hemodinámica	Tejidos	
BASAL	✓	✓		
PRECLAMPAJE	✓	✓	✓	✓
POSTCLAMPAJE	✓	✓		
PRE-REPERFUSIÓN	✓	✓	✓	✓
POSTREPERFUSIÓN	✓	✓	✓	✓
POSTREPERFUSIÓN 30	✓	✓	✓	✓

a) Variables hemodinámicas

Gracias al catéter en la arteria femoral, se pueden analizar las siguientes variables: Presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) así como la presión arterial media (PAM).

A través del catéter en arteria pulmonar podemos medir la presión pulmonar sistólica (PAPS), la diastólica (PAPD) y la media (PAPM), así como la presión capilar pulmonar (PCP) y la presión venosa central (PVC). Mediante estas mediciones el software estima los índices de resistencias vasculares pulmonares (IRVP) y sistémicas (IRVS).

Además, empleamos un monitor de gasto cardíaco, que mediante el método de termodilución nos permite analizar el índice cardíaco (IC), el índice de volumen sistólico (IVS), índices de trabajo sistólico ventriculares izquierdo y derecho (ITSVI e ITSVD).

Este se basa en la premisa de que, al añadir un indicador a la sangre circulante, la tasa de flujo sanguíneo será inversamente proporcional al cambio de concentración de ese indicador a lo largo del tiempo. Ese “indicador” puede ser un colorante (método de dilución del colorante) o un líquido con una temperatura diferente a la de la sangre (método de termodilución).

Este principio se aplica al CAP de la siguiente manera: se inyecta un líquido (suero salino fisiológico o suero glucosado) con temperatura diferente a la de la sangre (enfriado con hielo o a temperatura ambiente) a través de la luz proximal del catéter, en la aurícula derecha. Este líquido, al mezclarse con la sangre, bajará la temperatura de ésta y, al llegar a la arteria pulmonar, el termistor registrará el cambio de temperatura en función del tiempo. Esta información se procesa y se expresa en forma de una curva que relaciona el cambio de temperatura en relación al tiempo.

El área bajo la curva es inversamente proporcional al flujo sanguíneo en la arteria pulmonar, que es a su vez equivalente al gasto cardíaco (excepto si existen cortocircuitos intracardíacos). Las curvas correspondientes a gastos cardíacos altos presentan una subida rápida, un pico breve y un descenso también rápido. Las de gasto cardíaco bajo, por el contrario, presentan un ascenso y un descenso graduales. Mediante ordenador se integra el área bajo la curva, obteniéndose el valor numérico del gasto cardíaco.

Existen una serie de consideraciones técnicas:

- Posición del paciente: dado que el gasto cardíaco puede ser hasta un 30% más alto en decúbito supino que en posición semierguída, el cálculo del gasto cardíaco es preferible realizarlo en decúbito o, si ello no es posible, realizarlo siempre en la misma posición, a fin de minimizar la variabilidad debida a la misma.
- Tipo de líquido inyectado: los mejores resultados se obtienen inyectando suero fisiológico o suero glucosado al 5%, en razón a sus constantes de calor específico.

- Volumen inyectado: se aconseja un volumen de 10 ml, aunque también pueden inyectarse 5 ml si se enfría la solución en hielo.
- Temperatura del líquido inyectado: los mejores resultados se obtienen si se enfría en hielo hasta una temperatura inferior a 5° C, aunque también puede inyectarse a temperatura ambiente (siempre que ésta sea inferior a la de la sangre). En todo caso, no se recomienda utilizar sólo 5 ml si la temperatura es la ambiental. A la inversa, si se utilizan volúmenes de inyección pequeños, el enfriamiento en hielo aumenta la fiabilidad de las mediciones. La utilización de volúmenes pequeños a temperatura ambiente puede dar resultados inexactos, por lo que no se recomienda en los estados de bajo gasto.
- Duración de la inyección: los mejores resultados se obtienen con tiempos de inyección entre 2 y 4 segundos. Tiempos más prolongados pueden provocar resultados falsamente bajos.
- Momento de la inyección: el gasto cardíaco puede variar significativamente (hasta en un 10%) durante el ciclo respiratorio. Sin embargo, dado que es muy difícil sincronizar las inyecciones para que la curva se registre siempre durante la misma fase de la respiración, lo que se recomienda es empezar la inyección del líquido durante la misma fase del ciclo respiratorio.
- Vía de inyección: si no se puede emplear la vía proximal, puede utilizarse otra vía del mismo catéter, o incluso la del catéter introductor.
- Número de inyecciones: si la variabilidad entre ellas es inferior al 10% hay suficiente con 3. Si hay alguna medición claramente diferente (más del 10%) del resto deberá desestimarse. La primera determinación tiene más probabilidad de dar un resultado erróneo, por lo que será la primera en desestimarse.

b) Variables gasométricas

Se analizaron las muestras de sangre arterial obtenidas en los diferentes momentos que se han expuesto anteriormente, y se obtuvieron valores de presión arterial de oxígeno (PaO₂), así como de presión arterial de carbónico (PaCO₂) y pH sanguíneo.

Además obtuvimos valores de sangre venosa procedentes de muestras obtenidas del catéter venoso femoral y de muestras obtenidas directamente de la vena pulmonar del lóbulo reimplantado puncionando la misma a los 10 y 30 minutos tras la reperfusión.

c) Variables bioquímicas

1-Sangre: Las muestras de sangre venosa femoral, se emplearon para diferentes determinaciones bioquímicas. Se centrifugaron diez mililitros de sangre durante diez minutos a 1000 x g. El suero sobrenadante lo congelamos a -40 °C para analizarlo con posteridad.

2-Tejido pulmonar: Durante los experimentos, se extrajeron biopsias de pulmón tanto para cuantificar el edema pulmonar, como para realizar el análisis de diferentes parámetros bioquímicos. Las dos primeras muestras, preneumonectomía y pre-reperfusión, se extrajeron del lóbulo craneal del pulmón izquierdo. Mientras, las dos últimas muestras, que fueron postreperfusión a los 10 y a los 30 minutos, se extrajeron del lóbulo caudal del pulmón izquierdo, que es el que se reimplanta en todos los casos.

Cada una de las muestras de tejido es dividida en dos: una de ellas se emplea para cuantificar el edema pulmonar, y se congela en tubos de polipropileno a - 40°C; la otra se emplea para realizar

el estudio bioquímico, para ello se introducen en criotubos y se congelan con nitrógeno líquido a -80°C , hasta que son analizadas.

1-Determinaciones bioquímicas en plasma

-Óxido nítrico (NO): La concentración sérica de NO se basó en la reacción de Griess: la concentración de NO_2 tras la reducción de NO_3 a NO_2 . Brevemente las muestras obtenidas se desproteinizan mediante la adición de ácido sulfosalicílico, se incuban durante 30 minutos a 48°C y posteriormente se centrifugan a 12000 g durante 20 minutos. Después de la incubación de los sobrenadantes con *Escherichia coli* NO_3 reductasa durante 30 minutos a 37°C , se añade reactivo de Griess. La reacción se lleva a cabo a 22°C durante 20 minutos, y se midió la absorbancia a 546 nm utilizando la solución de NaNO_2 estándar. La señal medida es lineal de 1 a 150 mM. ($r=0,994$, $p<0,001$, $n=5$). El umbral de detección es $2\text{ }\mu\text{M}$.

-Cuantificación del edema pulmonar. Se expresa mediante la relación peso húmedo/seco, y se calcula mediante la fórmula “peso húmedo-peso seco / peso húmedo” midiendo el peso seco tras incubar las muestras durante 24 horas a 60°C . Después, se vuelven a pesar transcurridas 24 horas para verificar que efectivamente la deshidratación es completa. Los datos que expondremos se calculan de la siguiente forma: peso húmedo-peso seco/ peso húmedo. A mayor valor, mayor edema pulmonar.

2-Determinaciones en tejido pulmonar

a) Hidroperóxidos de Lípidos (LPO)

Se determinaron utilizando un kit específico (K-assay LPO–CC, Kamiya Biochemical Company, USA). Se basa en la reacción de los LPO con el cromógeno MCDP (10-N-metilcarbamoil-3-7-dimetilamino-10-10-fenotiacina) en una reacción enzimática catalizada por la hemoglobina en la que los LPO son reducidos a derivados hidroxílicos y el MCDP se oxida a azul de metileno en

una reacción equimolar: Los LPO son así cuantificados colorimétricamente midiendo la absorbancia de las muestras a 675 nm.

b) Expresión de citoquinas (TNF- α , IL-1, IL-6) y nitrato sintasa (eNOS, nNOS, iNOS)

Se realizó por Western blot utilizando anticuerpos específicos: monoclonal anti-human TNF- α (Endogen), monoclonal anti-IL1 y anti-IL6 (Bio Génesis), rabbit anti-nitric oxide Synthase I, anti-nitric oxide Synthase II y anti-nitric oxide Synthase III policlonal antibody (Chemicon International, Inc.)

Las muestras se homogeneizaron en tampón de lisis (100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L TRIS-Cl (trishidroximetilaminometano) (pH 7,6) 1mmol/L EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (pH 8), 1 μ g/ml aprotinina, 100 μ g/ml fluoruro de fenilmetilsulfonilo). Todas las muestras se diluyeron (1:1) con tampón 2X (100mmol/L TRIS-HCl (pH 6,8), 4% SDS (dodecilsulfato sódico), 20% glicerol, 0,1 azul de bromofenol, 200 mmol/L ditiotreititol) y se hirvieron 10 minutos a 100°C. Para corregir posibles variaciones en el tamaño de las muestras se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford (132).

Cantidades equivalentes de proteína se sometieron a electroforesis en gel de SDS poliacrilamida (10%). Una vez separadas las proteínas, eran transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, Mississauga, Ontario) a la que quedan unidas irreversiblemente y donde son más accesibles a los anticuerpos específicos. A continuación las membranas se incubaron 90 minutos a 37°C en un buffer (20mmol/L TRIS, 150 mmol/L NaCl, 0,2% Nonidet P 40, 5% leche desnatada) para bloquear la unión inespecífica, y después se incubaron 60 minutos a 20°C en presencia de anticuerpos primarios específicos. Tras un lavado para eliminar el anticuerpo no unido, las membranas se incubaron de nuevo durante 60 minutos a 20°C en presencia de un anticuerpo secundario que reconoce inmunoglobulinas de conejo, acoplado covalentemente a una

peroxidasa (horseradish peroxidase-conjugated polyclonal anti-rabbit IgG secondary antibody, Transduction Lab, Lexington, KY).

Tras el lavado de las membranas las proteínas se visualizaron mediante quimioluminiscencia (ECL system, Amersham, Oakville, Ontario).

Actividad Mieloperoxidasa

Se determinó por el método de Bradley, modificado (133). Brevemente, las muestras fueron tratadas con bromuro de hexadeciltrimetilamonio, para eliminar la actividad pseudoperoxidasa y solubilizar la mieloperoxidasa. Tras tres ciclos de sonicación, congelación y descongelación, las muestras fueron centrifugadas en microfuga y una alícuota del sobrenadante se mezcló con tampón fosfato, conteniendo dihidrocloruro de O-dianisidina y peróxido de hidrógeno. Finalmente fue determinada su absorbancia a 460 nm. Se define la unidad de actividad mieloperoxidasa como la actividad de enzima necesaria para degradar 1 mmol de peróxido de hidrógeno por minuto.

4. RESULTADOS.

4. RESULTADOS

4.1- Variables hemodinámicas

4.1.1- Variables hemodinámicas sistémicas (tabla 3)

4.1.1.1: Presión arterial media (PAM)

A lo largo del experimento la PAM aumenta hasta alcanzar el máximo en el momento postclampaje. Siendo significativo la diferencia con respecto al valor basal. Tras el clampaje los valores vuelven a disminuir hasta alcanzar el mínimo tras la reperfusión 30 minutos. Este descenso es significativo tanto en la reperfusión de 10 minutos como en la de 30 minutos, al compararlo con los valores de pre-reperfusión.

En las comparaciones intragrupo, en el grupo sevoflurano, resulta significativo el aumento que experimenta la PAM tras el clampaje respecto a los valores basales.

Por otra parte, al comparar ambos grupos, se observa una evolución paralela, sin encontrarse diferencias significativas entre ellos.

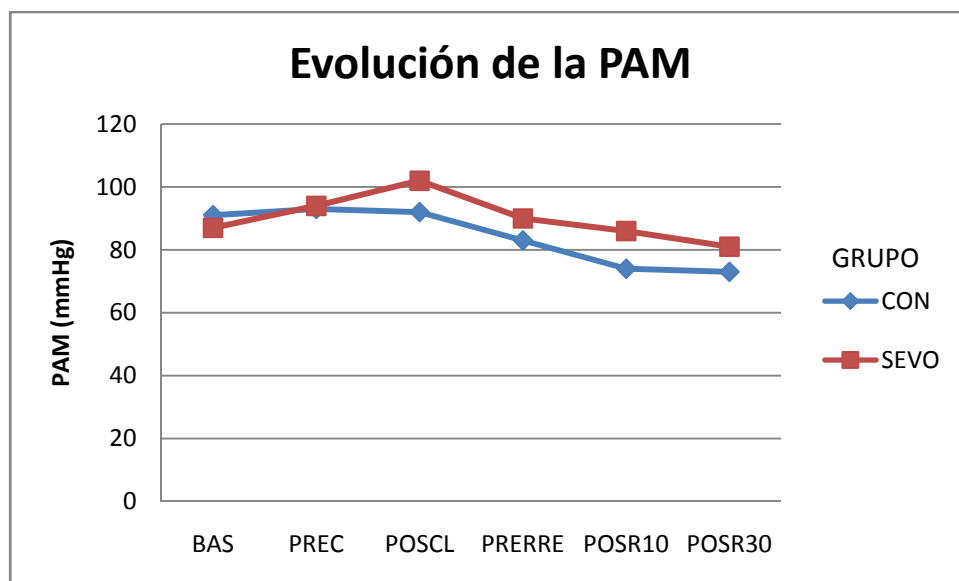


Figura 23. Evolución de la PAM (presión arterial media). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.1.2: Frecuencia cardiaca (FC)

La FC aumenta tras el clampaje, para luego volver a disminuir, pero sin embargo estas variaciones no alcanzan la significación estadística.

No existen variaciones significativas en la evolución de los valores en cada uno de los grupos.

Al comparar los dos grupos no se hallan diferencias significativas entre ambos pese a que los valores no siguen una evolución paralela.

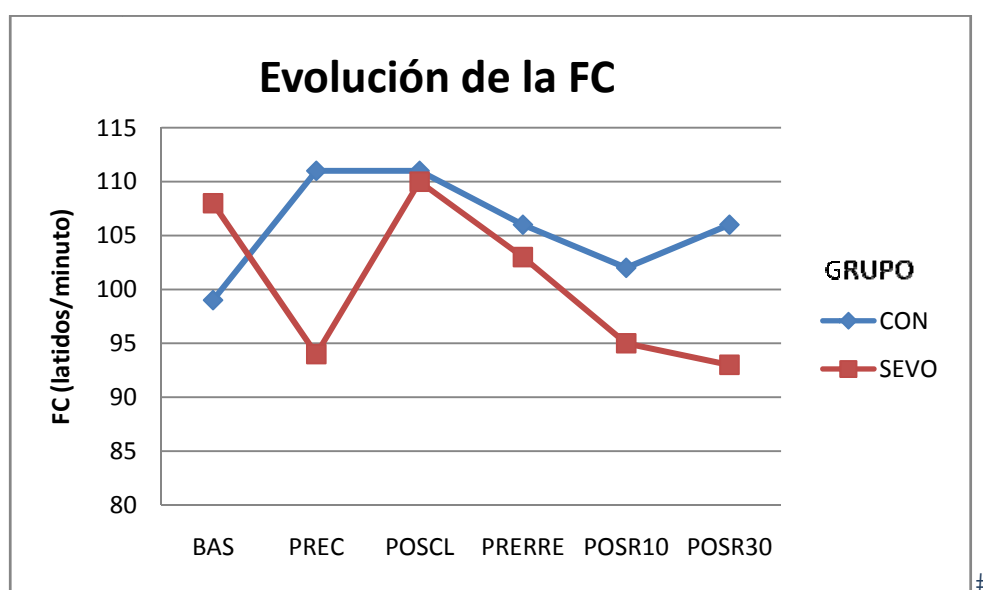


Figura 24. Evolución de la FC (frecuencia cardiaca). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.1.3: Índice de resistencias vasculares sistémicas (IRVS)

El IRVS aumenta tras el clampaje de la arteria pulmonar izquierda, siendo significativamente superior este valor al basal y al preclampaje. Tras la reperfusión los valores disminuyen progresivamente, alcanzando valores mínimos en la reperfusión de 30 minutos, significativamente inferiores a los de la pre-reperfusión.

En las comparaciones intragrupo del grupo control, observamos un descenso significativo en los valores postclampaje al compararlos con los basales. Tras la reperfusión los valores de la reperfusión de 30 minutos son significativamente menores a los de la pre-reperfusión. En el grupo sevoflurano los valores tras el clampaje de la arteria pulmonar izquierda son significativamente mayores a los basales. Sin embargo tras la reperfusión los valores disminuyen pero sin alcanzar la significación estadística.

Al comparar los dos grupos se observan unos valores significativamente mayores en el grupo sevoflurano respecto al control en los momentos pre y postclampaje. En el resto de valores no se encuentran diferencias significativas.

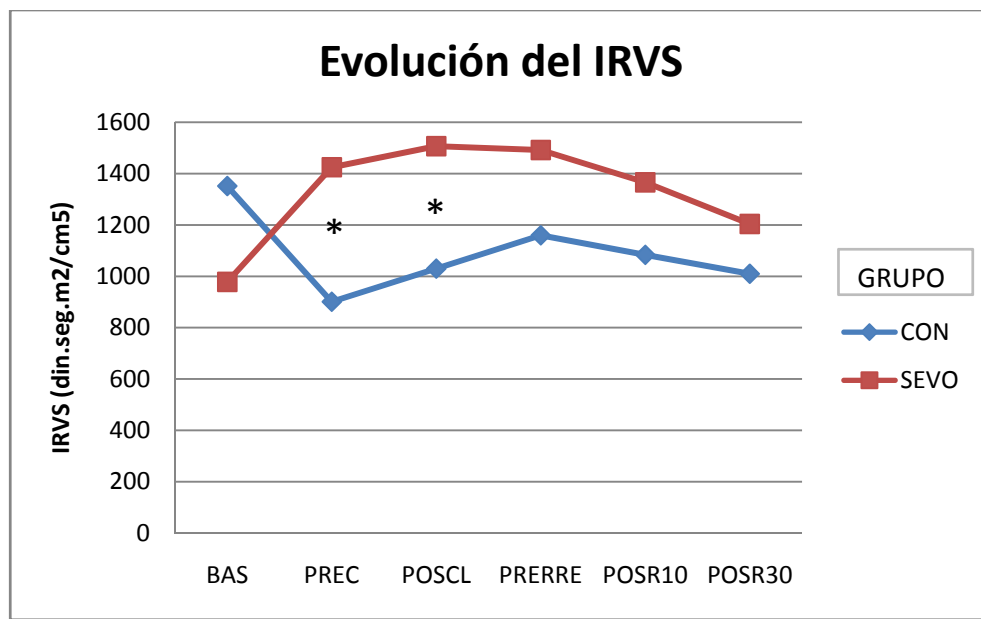


Figura 25. Evolución del IRVS (Índice de resistencias vasculares sistémicas). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.1.4: Índice volumen sistólico (IVS)

El IVS apenas se modifica tras el clampaje, sin embargo tras la reperfusión aumenta, alcanzando valores superiores a los de la pre-reperfusión en la reperfusión de 10 minutos.

En el grupo control no se encuentran diferencias significativas a lo largo del experimento. Sin embargo en el grupo sevoflurano se observa una disminución significativa en sus valores al comenzar la VUP (preclampaje) respecto a los valores basales. En el resto de momentos no se observan variaciones significativas.

Al comparar los dos grupos se observa una evolución similar, sin encontrarse diferencias significativas entre ambos.

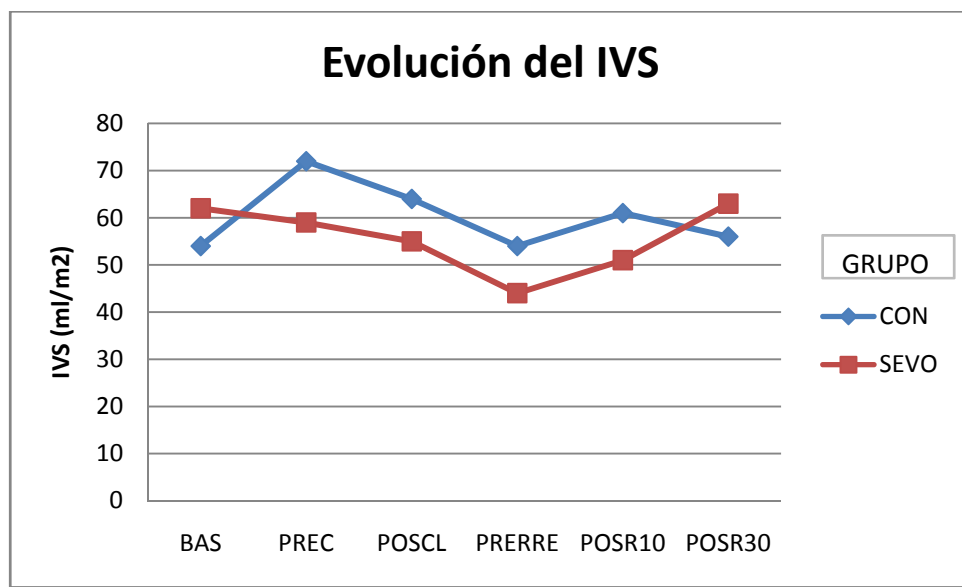


Figura 26. Evolución del IVS (Índice del volumen sistólico). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.1.5: Índice de trabajo sistólico del ventrículo izquierdo (ITSVI)

El ITSVI aumenta hasta valores máximos en el postclampaje, y posteriormente disminuye para mantenerse hasta el final del experimento. No existen diferencias al comparar en los momentos determinados, los valores totales del ITSVI.

En el grupo control los valores aumentan progresivamente hasta el clampaje, para luego disminuir progresivamente hasta el final del experimento. Sin embargo no se encuentran diferencias significativas a lo largo de esta evolución. En el grupo sevoflurano los valores

disminuyen tras el clampaje, pero en la reperfusión comienzan a ascender, si bien no supone diferencias significativas en las comparaciones intragrupo.

Al enfrentar los dos grupos no se observan diferencias significativas.

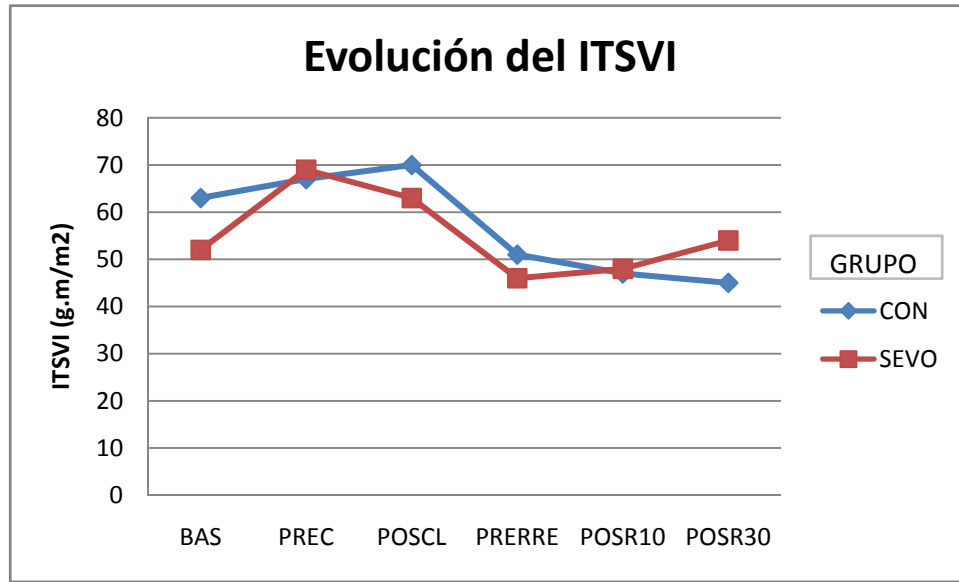


Figura 27. Evolución del ITSVI (Índice del trabajo sistólico del ventrículo izquierdo). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.1.6: Índice cardíaco (IC)

El IC aumenta hasta el clampaje, tras lo cual disminuye. En la reperfusión vuelve a aumentar progresivamente. No existen diferencias al comparar la evolución de los valores totales en los momentos determinados.

En las comparaciones intragrupo no existen diferencias.

Al comparar los dos grupos se observan valores significativamente mayores en el grupo control que en el grupo sevoflurano en los momentos de preclampaje y postclampaje. Por lo demás, se pone de manifiesto una evolución paralela de ambos grupos.

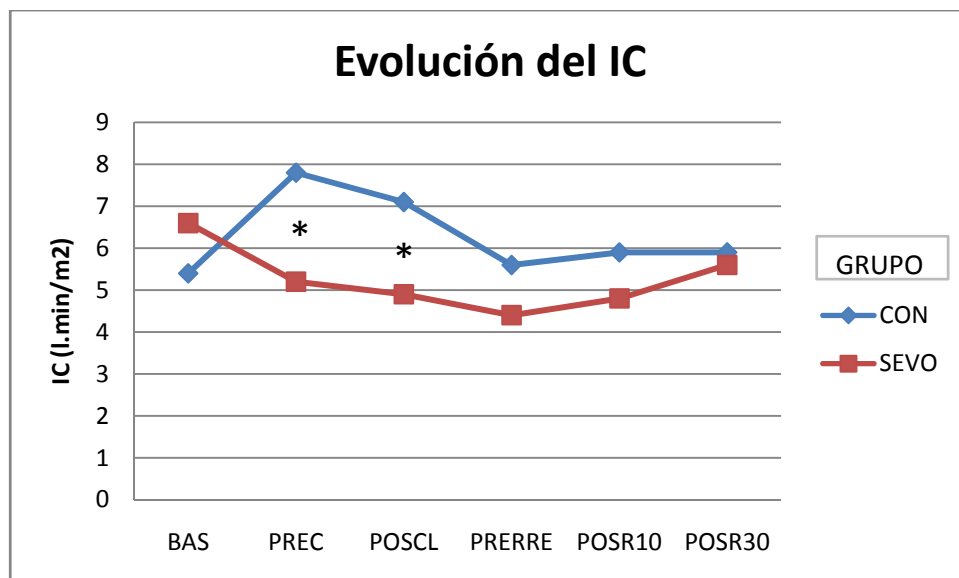


Figura 28. Evolución del IC (Índice cardíaco). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 3. Variables hemodinámicas sistémicas.

	GRUPO	BAS	PREC	POSCL	PRER	POSR10	POSR30
PAM (mmHg)	CON	91(12)	93(20)	92(16)	83(14)	74(13)	73(16)
	SEV VS CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	87(12) *	94(13)	102(7)	90(13)	86(14)	81(16)
	TOTAL	89(16) *	92(18)	96(13)	86(13)	80(14) ¶	76(16) ¶
FC (latidos/min)	CON	99(20)	111(16)	111(18)	106(24)	102(20)	106(25)
	SEV VS CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	108(22)	94(25)	110(30)	103(28)	95(21)	93(24)
	TOTAL	103(21)	102(22)	110(23)	104(25)	98(20)	99(25)
IRVS (din.seg.cm5/m2)	CON	1352(344) *	901(445)	1030(372)	1160(471)	1084(526)	1010(470) ¶
	SEV VS CON	NS	P=0,02	P=0,007	NS	NS	NS
	SEVO	978(447)	1425(354) *	1507(345)	1492(432)	1366(496)	1204(487)
	TOTAL	1174(430) *	1163(473) *	1255(426)	1317(471)	1224(518)	1112(475) ¶
IVS (ml/m2)	CON	54(14)	72(34)	64(29)	54(17)	61(29)	56(14)
	SEV VS CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	62(29)	59(17) ¥	55(26)	44(14)	51(13)	63(43)
	TOTAL	57(21)	65(26)	59(27)	49(16)	55(21) ¶	59(32)
ITSVI (g.m/m2)	CON	63(19)	67(28)	70(39)	51(23)	47(21)	45(16)
	SEV VS CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	52(18)	69(21)	63(33)	46(20)	48(18)	54(37)
	TOTAL	58(19)	68(24)	67(35)	48(21)	47(19)	49(28)
IC (l/min/m2)	CON	5,4(1)	7,8(3)	7,1(3)	5,6(2)	5,9(3)	5,9(2)
	SEV VS CON	NS	P=0,03	P=0,035	NS	NS	NS
	SEVO	6,6(3)	5,2(2)	4,9(1)	4,4(1)	4,8(2)	5,6(3)
	TOTAL	6(2)	6,5(2)	6(2)	5(2)	5,3(3)	5,7(3)

PAS: Presión arterial sistólica. PAD: Presión arterial diastólica. PAM: Presión arterial media. FC: Frecuencia cardíaca. IRVS: Índice de resistencias vasculares sistémicas. IVS: Índice de volumen sistólico. ITSVI: Índice de trabajo sistólico del ventrículo izquierdo. IC: Índice cardíaco. SEVO: Grupo sevoflurano. CON: Grupo control. BAS: Basal. PRECL: Preclampaje. POSCL: Postclampaje. PRER: Pre-reperusión. POSR10: Tras 10 minutos de reperusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperusión.

¥ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento basal.

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento postclampaje.

¶ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento pre-reperusión.

NS: no significativo.

4.1.2- Variables hemodinámicas pulmonares (tabla 4)

4.1.2.1: Presión arterial pulmonar media (PAPM)

La PAPM aumenta hasta alcanzar valores máximos y significativamente mayores en el momento postclampaje, frente a los basales y preclampaje. Tras el clampaje vuelve a disminuir y ya en la reperfusión vuelve a tener un repunte sin ser un aumento significativo al comparar los valores con los de la pre-reperfusión.

Al evaluar cada grupo, en el control encontramos valores en el postclampaje significativamente mayores a los del preclampaje. Mientras que en el resto de momentos no existen diferencias significativas. En el grupo sevoflurano no existen diferencias en las comparaciones intragrupo.

Al comparar los dos grupos, se observa una evolución paralela de ambos, y no se encuentran diferencias significativas.

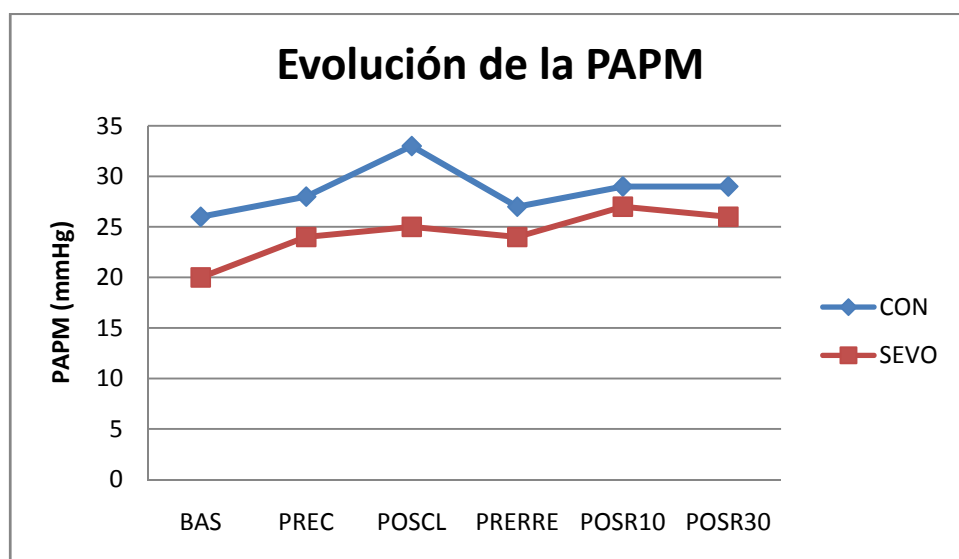


Figura 29. Evolución de la PAPM (Presión arterial pulmonar media).CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.2.2: Presión capilar pulmonar (PCP)

La PCP en el postclampaje, aumenta a valores significativamente mayores a los basales y preclampaje. En los momentos siguientes, mantiene valores similares, sin diferencias significativas.

En las comparaciones intragrupo se observa que en el grupo control la PCP aumenta significativamente al comparar los valores tras el clampaje con los basales. El resto del proceso permanece en cifras similares a las del clampaje, sin hallarse diferencias significativas. En el grupo sevoflurano se aprecia un repunte significativo en los valores de la PCP en el postclampaje al compararlos a los del preclampaje. Y al igual que en el grupo control, el resto del experimento continúa con cifras similares.

Al comparar ambos grupos se ponen de manifiesto valores mayores en el grupo control frente al sevoflurano prácticamente durante todo el experimento. Alcanzando la significación al instaurarse la VUP en el preclampaje, posteriormente en la pre-reperusión y especialmente en ambos momentos de reperusión.

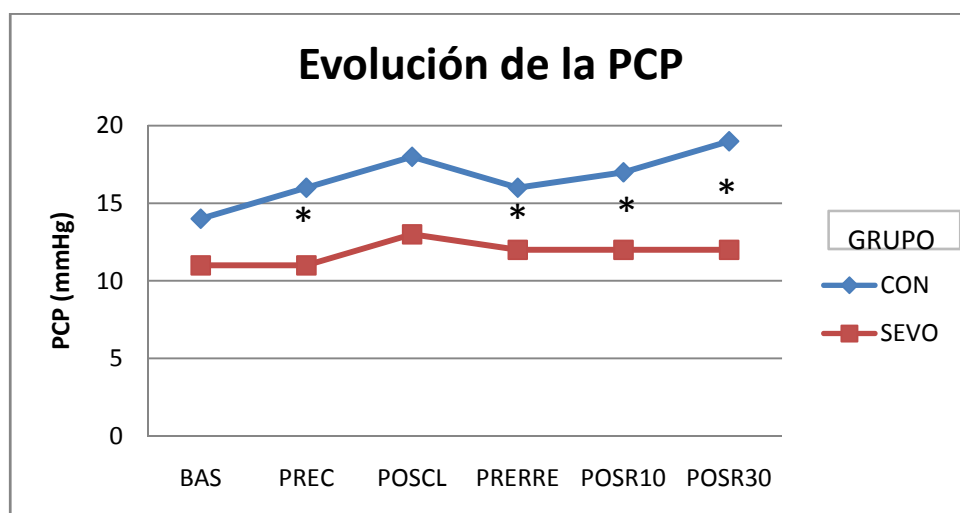


Figura 30. Evolución de la PCP (Presión capilar pulmonar). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.2.3: Presión venosa central (PVC)

La PVC experimenta un ascenso no significativo tras el clampaje de la arteria pulmonar, para luego volver a disminuir a valores iniciales.

No existen variaciones significativas en las comparaciones intragrupo a lo largo del experimento.

Al enfrentar ambos grupos no se aprecian diferencias entre ellos en ninguno de los momentos recogidos.

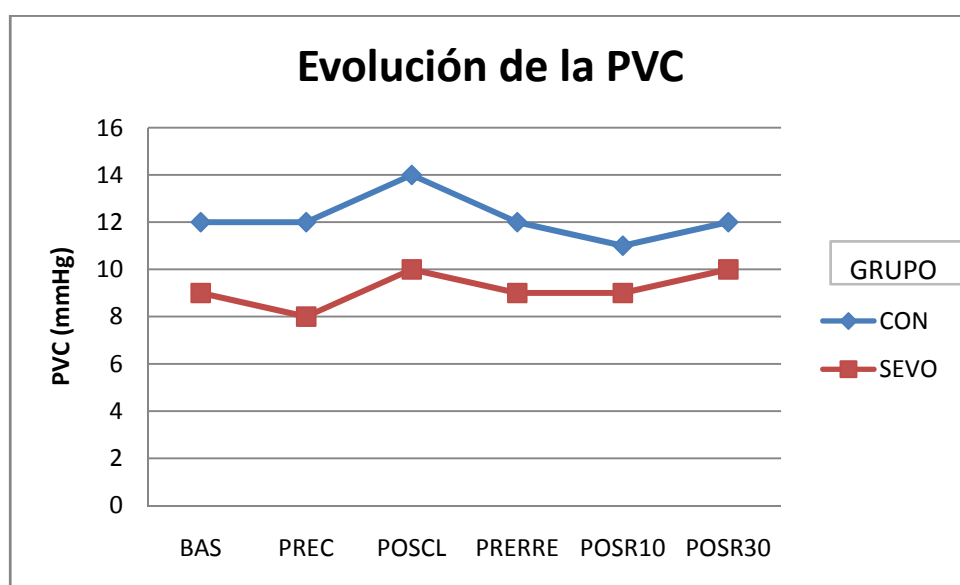


Figura 31. Evolución de la PVC (Presión venosa central).CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.2.4:Índice de resistencias vasculares pulmonares (IRVP)

La IRVP aumenta no significativamente, hasta alcanzar sus máximos valores en la pre-reperusión, para luego volver a descender a valores similares a los iniciales.

En el grupo control alcanza sus valores medios mayores en el postclampaje inmediato, aunque no llega a ser un aumento significativo. Lo mismo sucede en el grupo sevoflurano pero en el momento pre-reperusión.

Al comparar ambos grupos no se observan diferencias significativas entre ambos a lo largo del proceso.

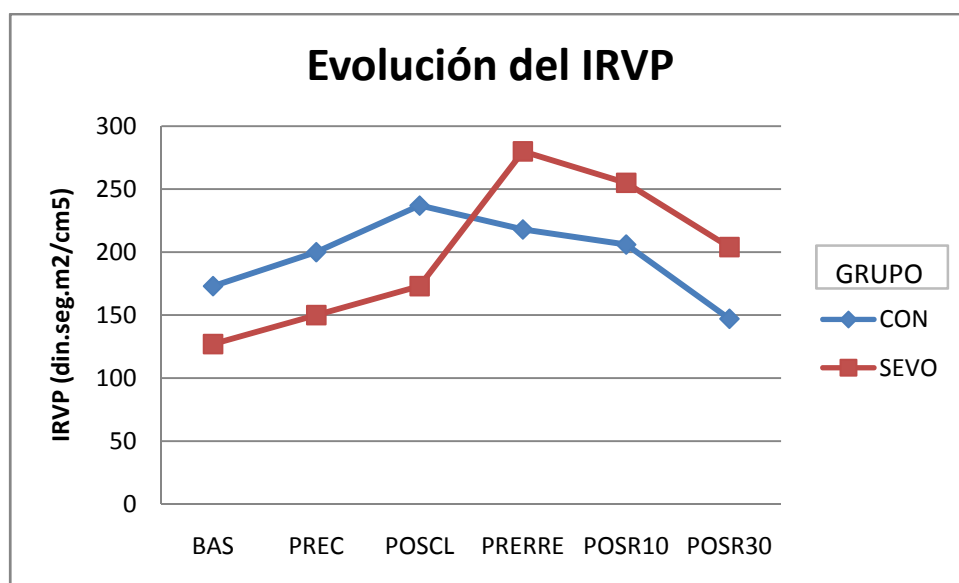


Figura 32. Evolución del IRVP (Índice de resistencias vasculares pulmonares). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.1.2.5: Índice de trabajo sistólico del ventrículo derecho (ITSVD)

El ITSVD no sufre variaciones significativas a lo largo del experimento. Si bien, aumenta durante la VUP para posteriormente descender en la pre-reperusión. En la reperusión tanto precoz como tardía, vuelve a crecer.

En el grupo control las variaciones observadas a lo largo del proceso no son significativas, mientras que en el grupo sevoflurano, el ascenso tras la VUP (preclampaje) y en el postclampaje inmediato, es significativo al compararlo a los valores basales.

Al estudiar las cifras de ambos grupos, no se observan diferencias significativas entre ellos.

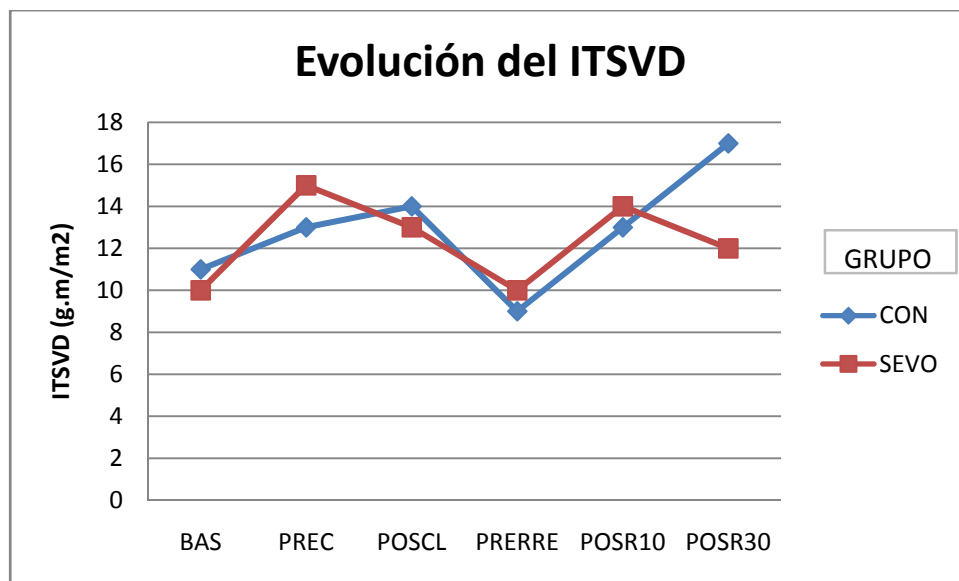


Figura 33. Evolución del ITSVD (Índice de trabajo sistólico del ventrículo derecho). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 4. Variables hemodinámicas pulmonares.

	GRUPO	BAS	PREC	POSCL	PRER	POSR10	POSR30
PAPM (mmHg)	CON	26(5)	28(10)*	33(10)	27(7)	29(9)	29(7)
	SEV vs CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	20(4)	24(5)	25(6)	24(6)	27(5)	26(5)e)
	TOTAL	23(5)*	25,6(8)*	28,5(9)	25(6)	28(7)	27(6)
PCP (mmHg)	CON	14(3)*	16(5)	18(4)	16(3)	17(5)	19(5)
	SEV vs CON	NS	P=0,03	NS	P=0,03	P=0,02	P=0,005
	SEVO	11(3)	11(3)*	13(3)	12(5)	12(6)	12(6)
	TOTAL	12,8(3) *	13(4)*	15(4)	14(5)	14(6)	16(7)
PVC (mmHg)	CON	12(3)	12(3)	14(5)	12(3)	11(3)	12(3)
	SEV vs CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	9(3)	8(3)	10(3)	9(5)	9(5)	10(5)
	TOTAL	10(3)	10(4)	12(4)	11(4)	10(4)	11(4)
IRVP (din.seg.cm5/m2)	CON	173(31)	200(95)	237(136)	218(100)	206(88)	147(80)
	SEV vs CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	127(83)	150(102)	173(101)	280(197)	255(113)	204(77)

	TOTAL	151(64)	173(99)	205(121)	249(154)	229(101)	174(81)
ITSVD (g.m/m2)	CON	11(5)	13(8)	14(10)	9(5)	13(8)	17(9)
	SEV vs CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	10(7)*	15(10) ¥	13(9)	10(5)	14(8)	12(5)
	TOTAL	10,5(6)	14(8)	14(9)	10(5)	13(8) ¶	15(8)

Presión arterial pulmonar media. PCP: Presión capilar pulmonar. PVC: Presión venosa central. IRVP: Índice de resistencias vasculares pulmonares. ITSVD: Índice de trabajo sistólico del ventrículo derecho. SEVO: Grupo sevoflurano. CON: Grupo control. BAS: Basal. PRECL: Preclampaje. POSCL: Postclampaje. PRER: Pre-reperusión. POSR10: Tras 10 minutos de reperusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperusión.

¥ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento basal.

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento postclampaje.

¶ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento pre-reperusión.

NS: no significativo.

4.2- Variables gasométricas

4.2.1- Variables gasométricas sistémicas (tabla 5)

4.2.1.1: Presión arterial de oxígeno sistémica (PO₂)

La PO₂ disminuye significativamente al iniciar la VUP, (preclampaje) y tras el clampaje vuelve a aumentar. En los siguientes momentos se mantiene en cifras similares, sin encontrarse variaciones significativas.

En el grupo control se pone de manifiesto un descenso significativo en el preclampaje, para luego aumentar de nuevo en el postclampaje. Ya en la reperfusión de 10 minutos, la PO₂ vuelve a descender significativamente al compararla con los valores de la pre-reperfusión. Finalmente, en la reperfusión tardía o de 30 minutos, sus valores crecen significativamente respecto a los de la reperfusión de 10 minutos. En el grupo sevoflurano se observa un descenso significativo con la VUP o preclampaje, que vuelve a crecer significativamente en el postclampaje y a partir de ahí permanece sin alteraciones significativas hasta el final del experimento.

Al comparar ambos grupos, no se obtienen diferencias significativas en ninguno de los periodos estudiados.

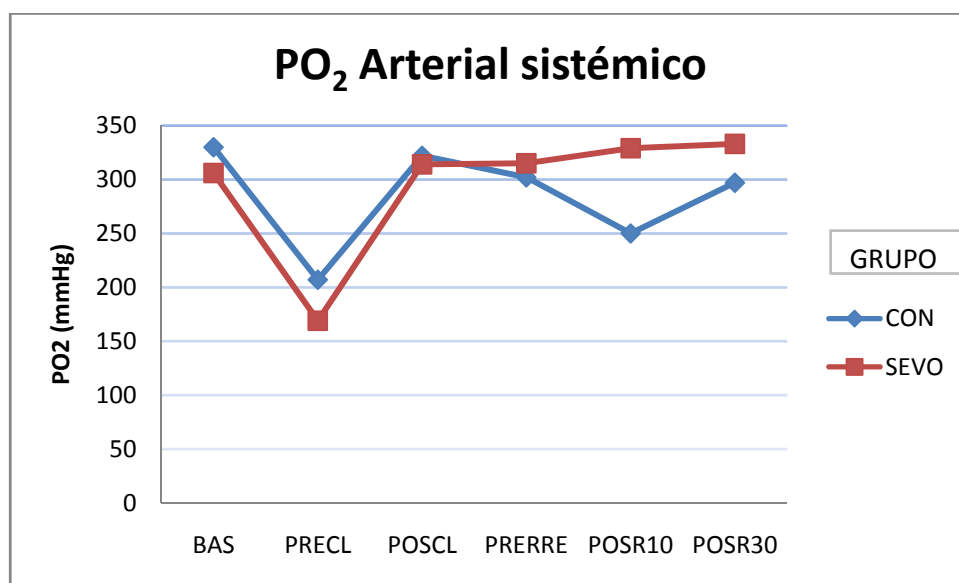


Figura 34. Evolución de la PO₂. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.1.2: Presión arterial de dióxido de carbono sistémica (PCO₂)

La PCO₂ aumenta significativamente en el preclampaje. Tras el clampaje disminuye pero continua en valores mayores a los basales. Posteriormente se mantiene en cifras similares hasta el final del experimento.

En el grupo control se aprecia un aumento significativo desde el comienzo de la VUP (en el preclampaje) y una disminución significativa al clampar la arteria pulmonar respecto a los valores del preclampaje. El resto del experimento permanece prácticamente inalterada. En el grupo sevoflurano se aprecia un aumento significativo en el preclampaje, ya con la VUP instaurada. Posteriormente, en el postclampaje, sus valores decaen a cifras significativamente mayores a las basales. El resto de momentos permanece sin alteraciones significativas.

Al comparar ambos grupos no se observan diferencias entre ellos.

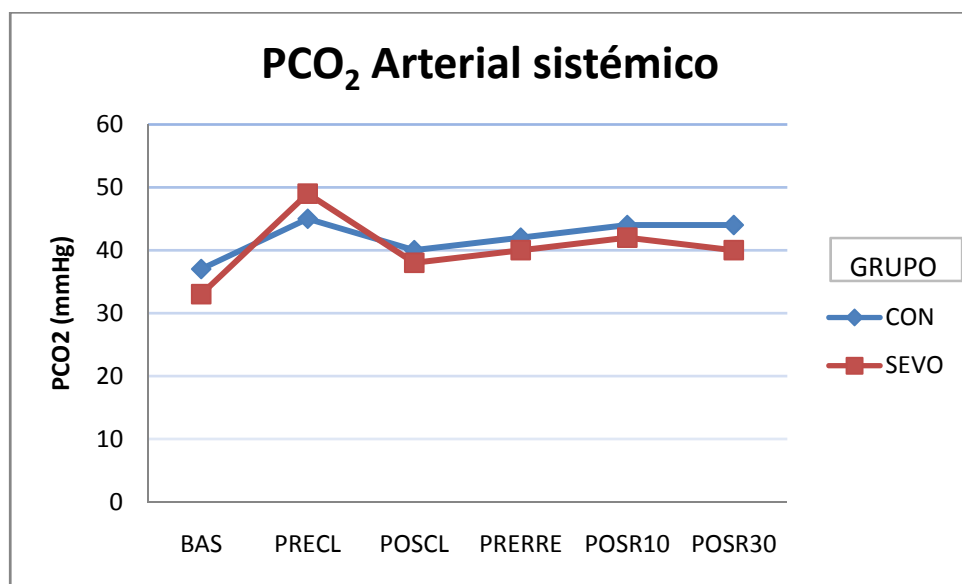


Figura 35. Evolución de la PCO₂ arterial sistémica. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.1.3: Ph sistémico

El Ph disminuye desde el inicio progresivamente, alcanzando valores significativamente menores a los basales en el postclampaje. Posteriormente continua su descenso, siendo significativo al comparar el valor de la reperfusión 10 minutos con el de la pre-reperfusión.

En el grupo control se observa un descenso significativo en el preclampaje respecto a los valores basales, mientras que en el resto de momentos no hay diferencias. En el grupo sevoflurano se aprecia un descenso en el momento pre y postclampaje respecto a los valores basales, permaneciendo el resto de momentos sin alteraciones.

No existen diferencias entre ambos grupos a lo largo de los diversos momentos.

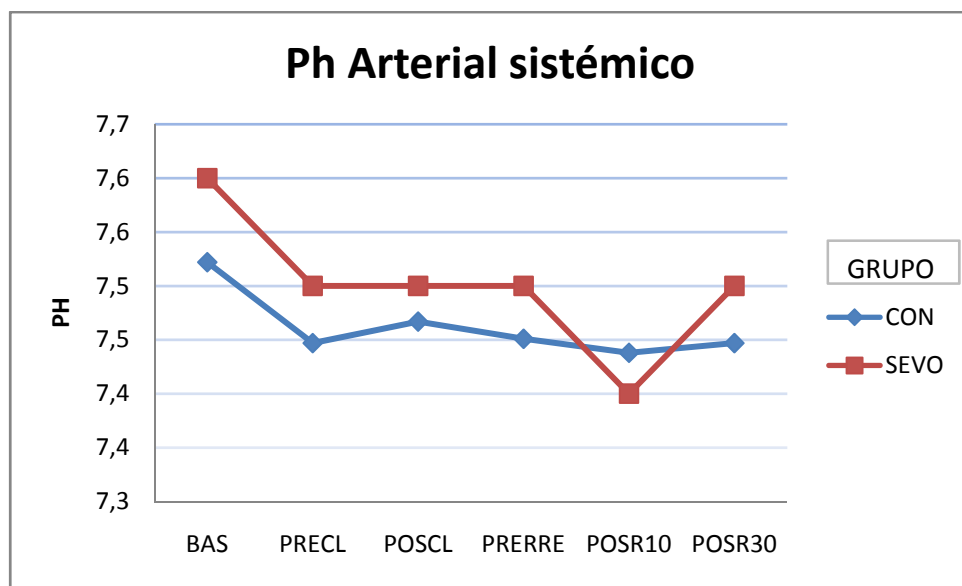


Figura 36. Evolución del PH arterial sistémico. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 5. Variables gasométricas sistémicas.

	GRUPO	BAS a)	PREC b)	POSCL c)	PRER d)	POSR e)	POSR30
PO₂ (mmHg)	CON	330(174)	207(118) ¥*	322(132)	302(151)	250(150) ¶	297(154)
	SEV vs						
	CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	306(118)	169(72) ¥*	314(99)	315(132)	329(138)	333(154)
	TOTAL	318(145)	187(97) ¥*	318(114)	308(138)	289(146)	315(151)
PCO₂ (mmHg)	CON	37(7)	45(10) *	40(7)	42(9)	44(11)	44(15)
	SEV vs						
	CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	33(4) *	49(33)	38(5)	40(7)	42(7)	40(8)
	TOTAL	35(6) *	46(24) ¥*	39(6)	41(7)	43(9)	42(12)
PH	CON	7,5(0,08)	7,4(0,09) ¥	7,5(0,07)	7,5(0,08)	7,4(0,07)	7,4(0,10)
	SEV vs						
	CON	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	SEVO	7,6(0,07) *	7,5(0,08) ¥	7,5(0,09)	7,5(0,08)	7,4(0,09)	7,5(0,11)
	TOTAL	7,54(0,07) *	7,47(0,08)	7,48(0,08)	7,46(0,08)	7,44(0,08) ¶	7,45(0,1)

PO₂: Presión arterial de O₂. PCO₂: Presión arterial de CO₂. SEVO: Grupo sevoflurano. CON:

Grupo control. BAS: Basal. PRECL: Preclampaje. POSCL: Postclampaje. PRER: Pre-reperusión. POSR10: Tras 10 minutos de reperusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperusión.

¥ Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento basal.

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento postclampaje.

¶ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento pre-reperusión.

NS: no significativo.

4.2.2- Variables gasométricas de la vena pulmonar del injerto (tabla 4)

4.2.2.1: Presión arterial de oxígeno de la vena pulmonar del injerto

La PO_2 de la vena pulmonar del injerto disminuye conforme se prolonga la reperusión pero no de manera significativa.

En ninguno de los grupos existen diferencias significativas al comparar ambos momentos de reperusión.

Sin embargo, la PO_2 de la vena pulmonar del injerto, es mayor en el grupo preconditionado con sevoflurano frente al control tanto en la reperusión de 10 minutos como en la de 30 minutos.

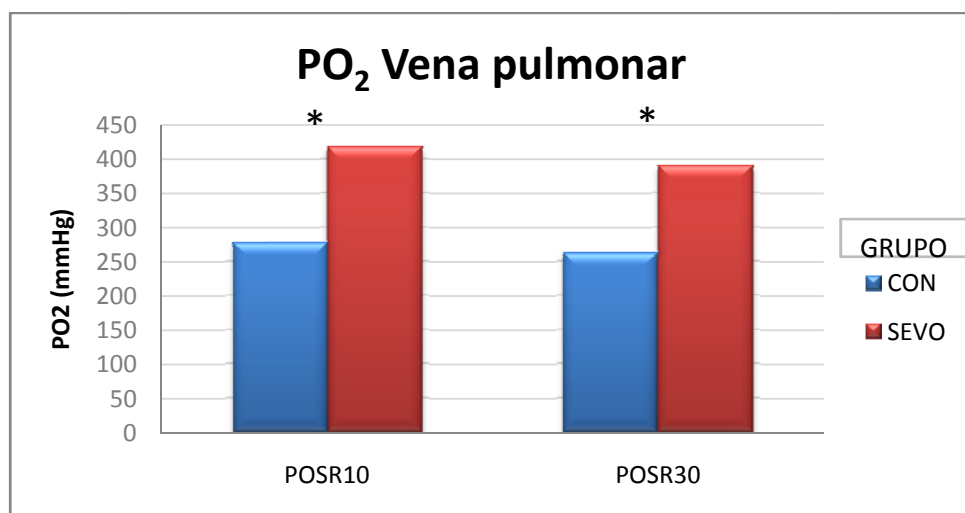


Figura 37. Valores de la PO_2 en la vena pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.2.2: Presión arterial de dióxido de carbono de la vena pulmonar del injerto

La PCO₂ de la vena pulmonar del injerto, no se modifica a lo largo de la reperusión.

No existen variaciones en cada uno de los grupos.

Al compararlos, no hay diferencias significativas entre los especímenes preconditionados con sevoflurano y los que no lo fueron.

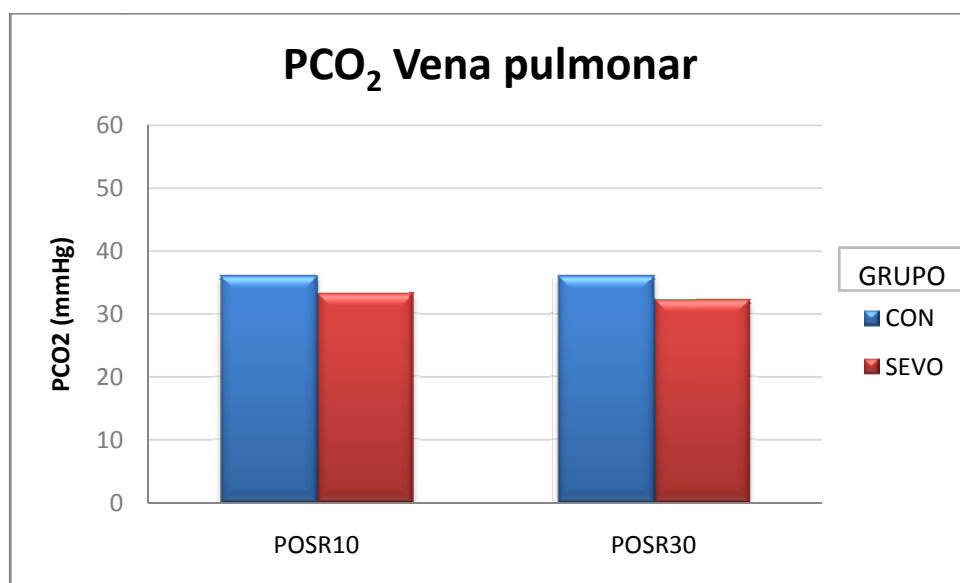


Figura 38. Valores de la PCO₂ en la vena pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.2.3: Ph de la vena pulmonar del injerto

El Ph de la vena pulmonar del injerto, no se modifica en ninguno de los momentos determinados.

Tampoco existen variaciones intragrupo significativas durante la reperusión.

No se hallan diferencias en cuanto al valor del Ph de la vena pulmonar del injerto, al comparar ambos grupos.

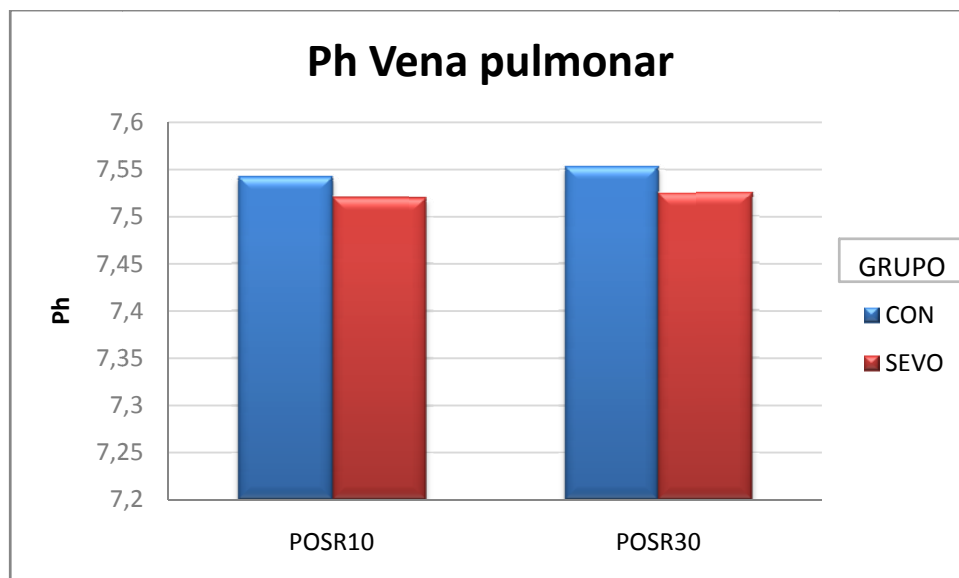


Figura 39. Valores del Ph en la vena pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 6. Variables gasométricas de vena pulmonar del injerto.

	GRUPO	POSR10 a)	POSR30
PaO₂VP (mmHg)	CON	278(166)	263(131)
	SEV vs CON	P=0,02	P=0,03
	SEVO	419(91)	391(140)
	TOTAL	348(149)	326(147)
PCO₂VP (mmHg)	CON	36(13)	36(17)
	SEV vs CON	NS	NS
	SEVO	33(11)	32(15)
	TOTAL	34(11)	34(16)
PhVP	CON	7,5(0,11)	7,6(0,17)
	SEV vs CON	NS	NS
	SEVO	7,5(0,12)	7,5(0,18)
	TOTAL	7,5(0,1)	7,5(0,17)

PO₂VP: Presión de O₂ de la vena pulmonar del injerto . PCO₂VP: Presión de CO₂ de la vena pulmonar del injerto. PhVP: Valores del Ph de la vena pulmonar del injerto. SEVO: Grupo sevoflurano. CON: Grupo control. POSR10: Tras 10 minutos de reperfusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperfusión. a)Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en la comparación intragrupo (SEVO ó CONTROL) respecto a grupo 10 minutos de reperfusión. NS: no significativo.

4.2.3- Variables gasométricas de la arteria pulmonar del injerto (tabla 5)

4.2.3.1: Presión arterial de oxígeno de la arteria pulmonar del injerto

La PO₂ de la arteria pulmonar del injerto experimenta un ascenso no significativo a lo largo de la reperfusión.

No existen variaciones en cada uno de los grupos.

Tampoco se encuentran diferencias significativas al comparar ambos grupos.

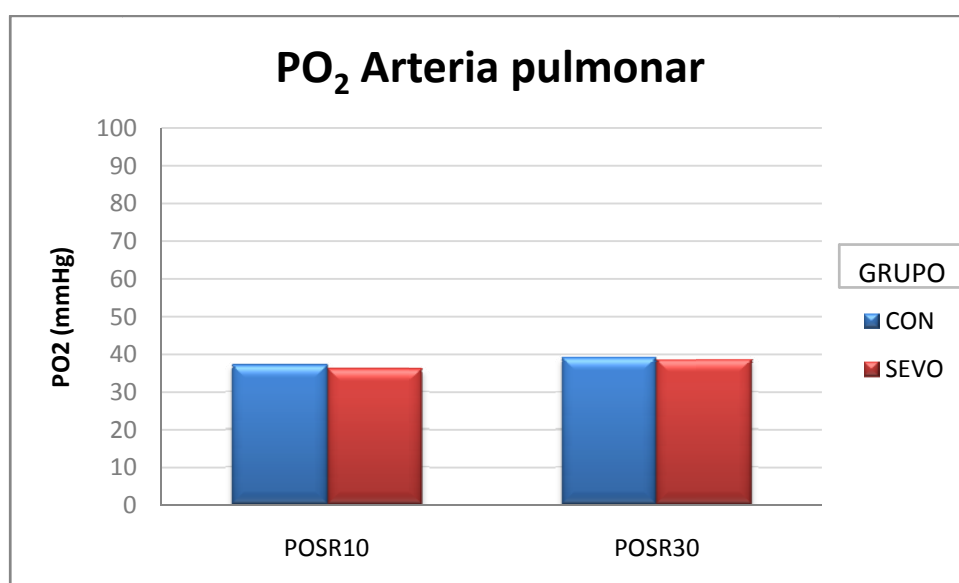


Figura 40. Valores de la PO₂ en la arteria pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.3.2: Presión arterial de dióxido de carbono de la arteria pulmonar del injerto

Los valores de PCO₂ de la arteria pulmonar del injerto no se modifican durante la reperfusión.

No existen variaciones significativas en ninguno de los grupos estudiados.

Al comparar ambos grupos tampoco se hallan diferencias.

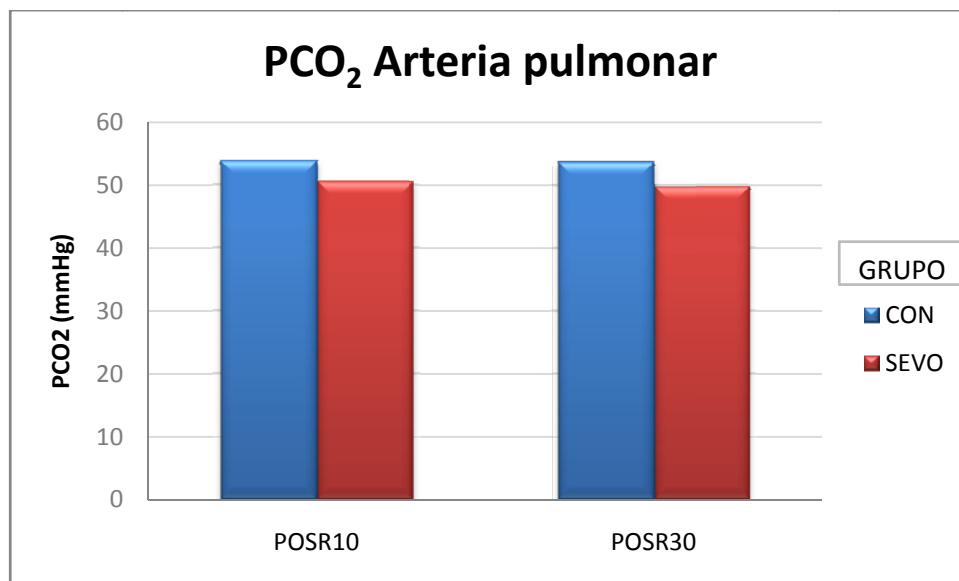


Figura 41. Valores d la PCO₂ en la arteria pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.2.3.3: Ph de la arteria pulmonar del injerto

El Ph de la arteria pulmonar del injerto permanece sin modificaciones durante la reperfusión.

Tampoco hay variaciones intragrupo en esos mismos momentos.

Al comparar ambos grupos no se encuentran diferencias significativas entre ellos.

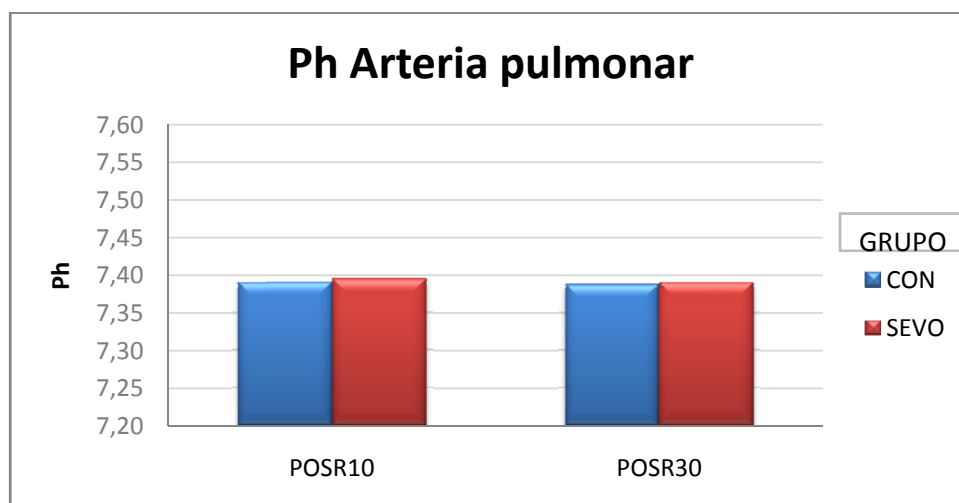


Figura 42. Valores del PH en la arteria pulmonar del injerto. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 7. Variables gasométricas de arteria pulmonar del injerto.

	GRUPO	POSR a)	POSR30
PaO₂ AP (mmHg)	CON	37 (10)	39(11)
	SEV vs CON	NS	NS
	SEVO	36(7)	39(5)
	TOTAL	36(8,5)	39(8,5)
PCO₂ AP (mmHg)	CON	54(12)	54(16)
	SEV vs CON	NS	NS
	SEVO	51(12)	50(9)
	TOTAL	52(12)	52(13)
PhAP	CON	7,4(0,08)	7,4(0,09)
	SEV vs CON	NS	NS
	SEVO	7,4(0,10)	7,4(0,09)
	TOTAL	7,4(0,09)	7,4(0,09)

PO2AP: Presión arterial de O₂ de la arteria pulmonar del injerto . PCO₂: Presión arterial de CO₂ de la arteria pulmonar del injerto. PhVP: Valores del Ph de la arteria pulmonar del injerto. SEVO: Grupo sevoflurano. CON: Grupo control. POSR10: Tras 10 minutos de perfusión. POSR30: Tras 30 minutos de perfusión. a)Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en la comparación intragrupo (SEVO ó CONTROL) respecto a grupo 10 minutos de perfusión. NS: no significativo.

4.3- Resultados bioquímicos

4.3.1- Óxido nítrico (tabla 6)

4.3.1.1- Óxido nítrico (NO)

El NO desciende significativamente en la pre-reperusión para luego mantenerse inalterado hasta el final del experimento.

En el grupo control el NO, disminuye de manera significativa en la pre-reperusión para ascender posteriormente en la reperusión pero a cifras significativamente menores a las del postclampaje.

En el grupo sevoflurano no existen variaciones en las cifras del NO a lo largo del experimento.

Al comparar ambos grupos se encuentran valores significativamente mayores del NO en el grupo sevoflurano desde la pre-reperusión hasta el final del experimento en la reperusión de 30 minutos.

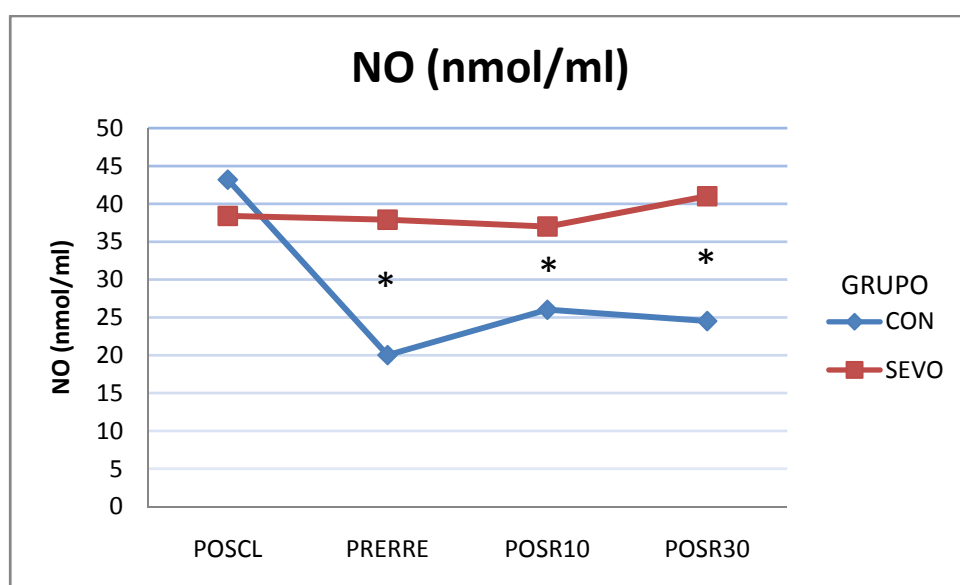


Figura 43. Valores del NO (óxido nítrico). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.1.2- Óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS)

La eNOS desciende en la pre-reperusión para posteriormente mantenerse sin cambios hasta el final del experimento.

La eNOS en el grupo control, desciende significativamente en la pre-reperusión y se mantiene en valores menores a los del postclampaje incluidos los de las reperfusiones de 10 y 30 minutos.

En el grupo sevoflurano, en la pre-reperusión los valores de la eNOS aumentan significativamente y se mantienen elevados el resto del procedimiento.

Al comparar ambos grupos se observan valores significativamente mayores en el grupo sevoflurano durante la pre-reperusión, reperusión de 10 y 30 minutos.

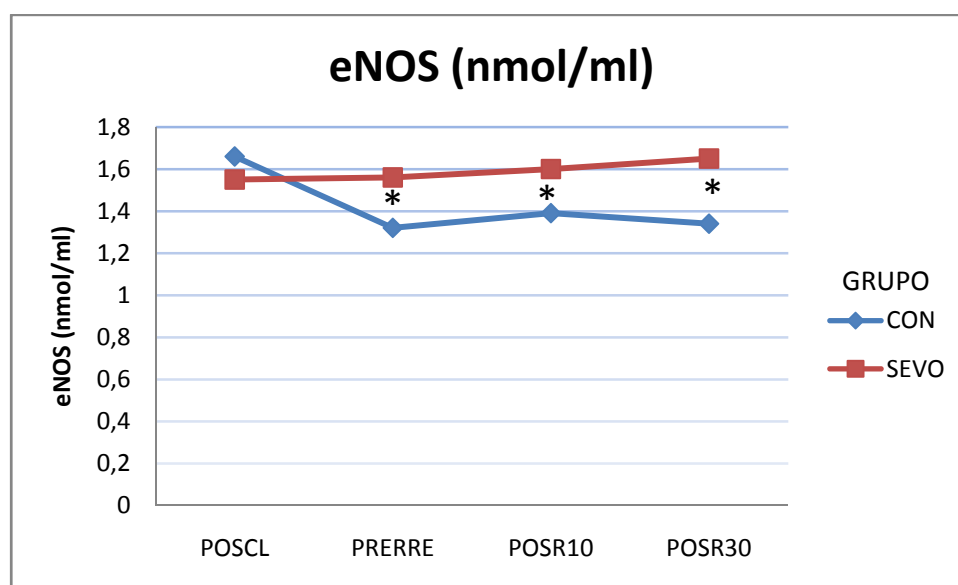


Figura 44. Valores del eNOS (óxido nítrico sintetasa endotelial). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.1.2- Óxido nítrico sintetasa neuronal (nNOS)

La nNOS desciende en la pre-reperusión y permanece en esos niveles hasta el final del experimento.

En el grupo control la nNOS disminuye en la pre-reperusión. Posteriormente, en la reperusión de 10 minutos, aumenta significativamente respecto al valor de la pre-reperusión, pero sigue siendo inferior al del postclampaje. En la reperusión de 30 minutos se mantienen niveles inferiores a los del postclampaje. En el grupo sevoflurano no existen variaciones.

Al comparar los dos grupos se observan valores significativamente mayores desde la pre-reperusión y hasta el final del experimento.

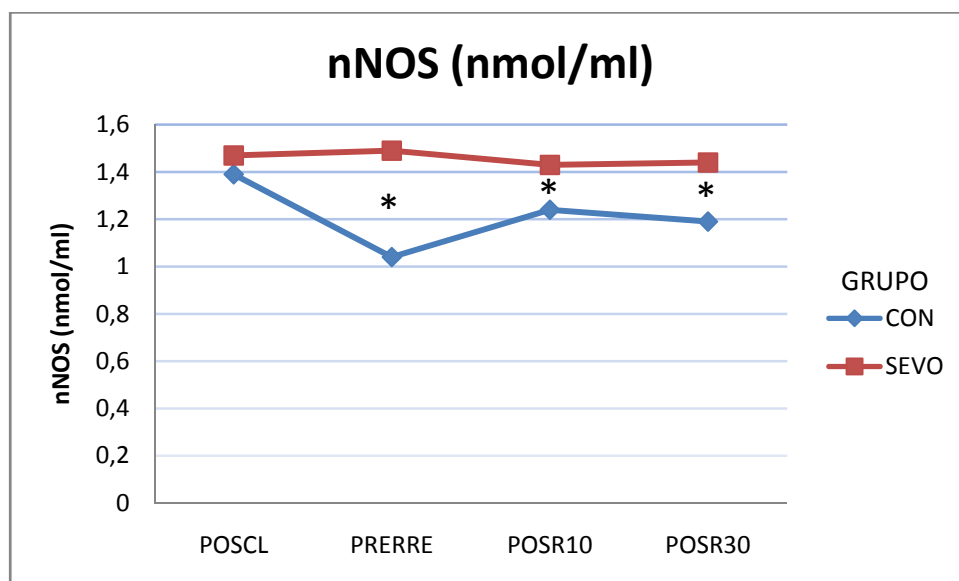


Figura 45. Valores del nNOS (óxido nítrico sintetasa neuronal). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.1.4- Óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS)

La iNOS no sufre variaciones a lo largo del proceso.

En el grupo control los iNOS aumenta progresivamente, alcanzando valores significativamente mayores en la reperusión de 10 minutos y en la reperusión de 30 minutos, al compararlos con los de postclampaje y pre-reperusión. Sin embargo en el grupo sevoflurano la iNOS disminuye progresivamente, alcanzando valores significativamente menores en la reperusión de 10 y 30 minutos al compararlos con los de postclampaje y pre-reperusión.

Al comparar los dos grupos se evidencian diferencias con valores mayores en el grupo control frente al sevoflurano en los momentos de pre-reperusión, reperusión de 10 y de 30 minutos.

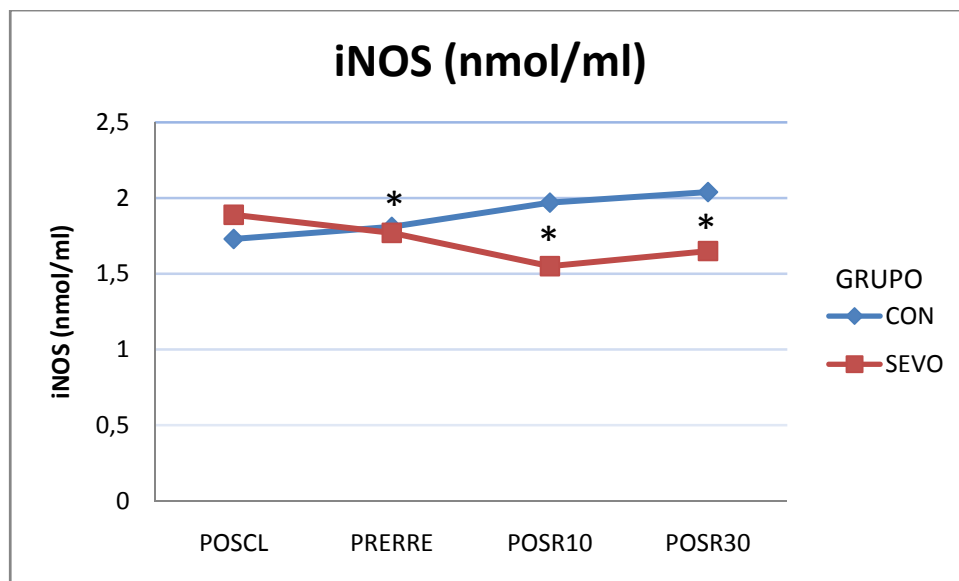


Figura 46. Valores de la iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 8. Óxido nítrico y enzimas óxido nítrico sintetetas.

Variables	GRUPO	PREC	PRER	POSR10	POSR30
NO (nmol/ml)	CON	43,2(3,4)	20(1,7) *	26(2,8) *	24,5(2,2) *
	SEVO vs CON	NS	P=0,035	P=0,00122	P=0,0016
	SEVO	38,4(2,3)	37,9(4,7)	37(3)	41(3,1)
	TOTAL	40,8(2,7)	28,95(3,9) *	31,5(3)	32,75(2,7)
eNOS (nmol/ml)	CON	1,66(0,01)	1,32(0,01) *	1,39(0,02) *	1,34(0,01)*
	SEVO vs CON	NS	P=0,01	P=0,02	P=0,01
	SEVO	1,55(0,04)	1,56(0,03) *	1,60(0)*	1,65(0,01)*
	TOTAL	1,605(0,02)	1,44(0,02)*	1,495(0,02)	1,495(0,01)
nNOS (nmol/ml)	CON	1,39(0,04)	1,04(0,05) *	1,24(0,04) *¶	1,19(0,04) *
	SEVO vs CON	NS	P=0,017	P=0,038	P=0,02
	SEVO	1,47(0,03)	1,49(0,04)	1,43(0,06)	1,44(0,01)
	TOTAL	1,43(0,04)	1,265(0,05)*	1,335(0,06)	1,315(0,04)
iNOS (nmol/ml)	CON	1,73(0,02)	1,81(0,06)	1,97(0,03) *¶	2,04(0,03) *¶
	SEVO vs CON	NS	P=0,045	P=0,01	P=0,01
	SEVO	1,89(0,03)	1,77(0,02)	1,55(0,05) *¶	1,65(0,02) *¶
	TOTAL	1,81(0,03)	1,79(0,04)	1,76(0,05)	1,845(0,03)

Datos expresados como media y desviación estándar. NO: Óxido nítrico; eNOS: Óxido nítrico sintetasa endotelial; nNOS: Óxido nítrico sintetasa neuronal; iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible; CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano. POSCL: Postclampaje; PRER: Pre-reperfusion; POSR10: 10 min postreperfusion; POSR30: 30 min postreperfusion. . SEVO: Grupo sevoflurano. CON: Grupo control. POSCL: Postclampaje. PRER: Pre-reperfusión. POSR10: Tras 10 minutos de reperfusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperfusión.

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento postclampaje.

¶ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento pre-reperfusión.

NS: no significativo.

4.3.2- Edema pulmonar, estrés oxidativo y actividad inflamatoria (tabla 9)

4.3.2.1- Edema pulmonar

Los valores del edema pulmonar permanecen inalterados hasta la reperfusión de 30 minutos que descienden significativamente respecto a los del postclampaje y pre-reperfusión.

En el grupo control no existen diferencias en los diversos momentos. Sin embargo en el grupo sevoflurano desciende significativamente en la reperfusión de 30 minutos al compararlo con los momentos previos.

En la comparación entre grupos, no existen diferencias hasta el momento de reperfusión de 30 minutos, en que los valores en el grupo sevoflurano son significativamente menores.

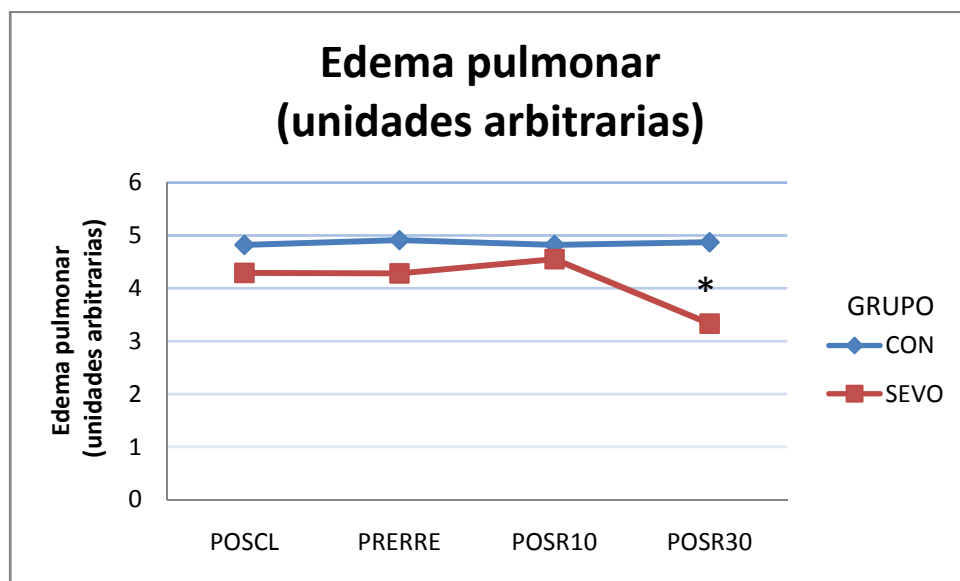


Figura 47. Comparación del edema pulmonar. CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.2.2- LPO (lipoperoxidasa)

Los valores de LPO aumentan significativamente desde la pre-reperfusión y hasta el final del experimento.

En el grupo control se aprecia un aumento de los valores de la LPO desde la pre-reperfusión hasta el final del procedimiento. En el grupo sevoflurano se observa un aumento en la pre-

reperfusión respecto al grupo postclampaje. En el resto de momentos no existen diferencias en los valores.

Al comparar ambos grupos se observan valores significativamente menores en el grupo sevoflurano respecto al control desde la pre-reperfusión y hasta el final del proceso.

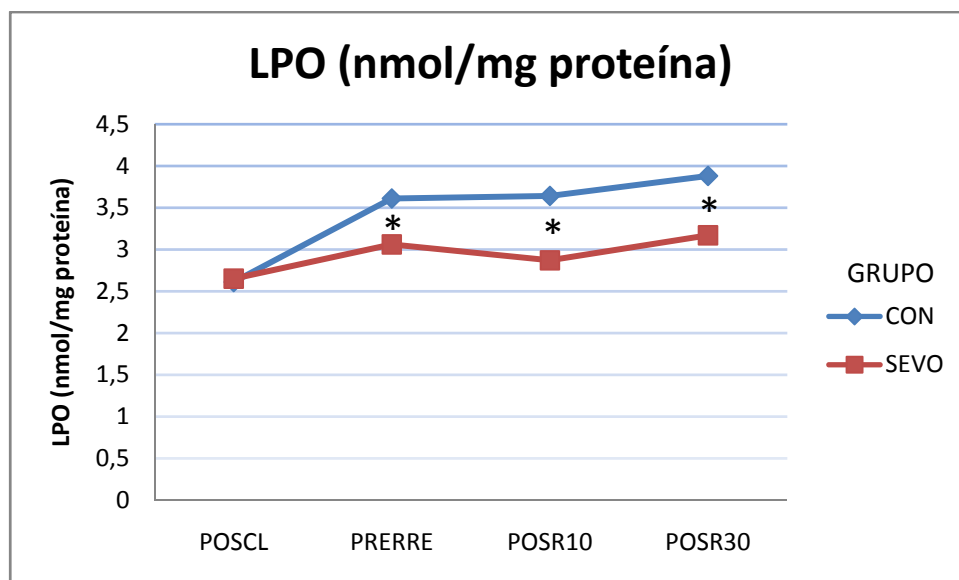


Figura 48. Valores de la LPO (lipoperoxidasa). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.2.3- MDA (malondialdehído)

El MDA no se altera en la pre-reperfusión, y es en la reperfusión de 10 y de 30 minutos cuando asciende significativamente respecto a los valores del postclampaje y de la pre-reperfusión.

En el grupo control los valores aumentan en la pre-reperfusión respecto al postclampaje. Posteriormente en la reperfusión tanto de 10, como de 30 minutos los valores aumentan significativamente tanto respecto al postclampaje como a la pre-reperfusión. En el grupo sevoflurano sucede lo mismo; los valores aumentan en la pre-reperfusión. Y posteriormente en ambos momentos de reperfusión, asciende significativamente respecto al postclampaje, y respecto a la pre-reperfusión.

Al comparar ambos grupos vemos que existen valores menores en el grupo sevoflurano respecto al control tanto en la reperfusión de 10 como en la de 30 minutos.

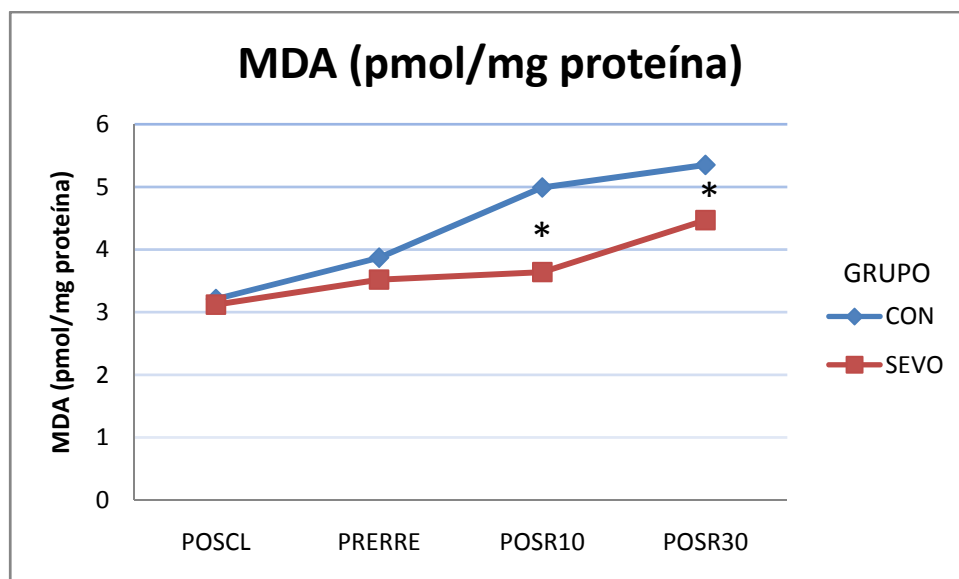


Figura 49. Valores de la MDA (malondialdehído). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.2.4- MPO (mieloperoxidasa)

La MPO se mantiene sin variaciones hasta la reperfusión que asciende significativamente, tanto en la de 10, como la de 30 minutos respecto al postclampaje y pre-reperfusión.

En el grupo control observamos como asciende significativamente en la reperfusión de 10 y 30 minutos al comparar sus valores con los del postclampaje y pre-reperfusión. En el grupo sevoflurano la MPO permanece sin variaciones a lo largo del proceso.

Al comparar ambos grupos, se aprecian valores significativamente menores en el grupo sevoflurano tanto en la reperfusión de 10, como en la de 30 minutos.

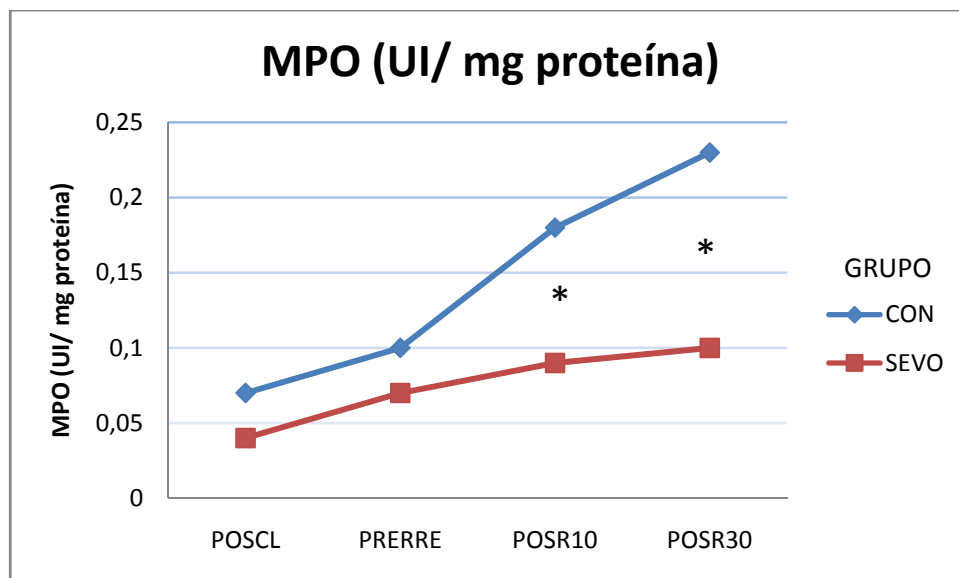


Figura 50. Valores de la MPO (mieloperoxidasa). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.2.5- IL-1 (interleuquina 1)

Los valores de IL-1 no se modifican a lo largo del procedimiento.

En el grupo control los valores de IL-1 aumentan en la pre-reperfusión y se mantienen elevados el resto del proceso al compararlos con los del postclampaje. En el grupo sevoflurano, sus valores se mantienen sin variaciones hasta la perfusión de 10 minutos, momento en que sufren un descenso significativo, para posteriormente, en la perfusión de 30 minutos, volver a elevarse a los valores iniciales.

Al comparar ambos grupos se observan valores significativamente menores en el grupo sevoflurano respecto al control desde la pre-reperfusión y hasta el final del procedimiento.

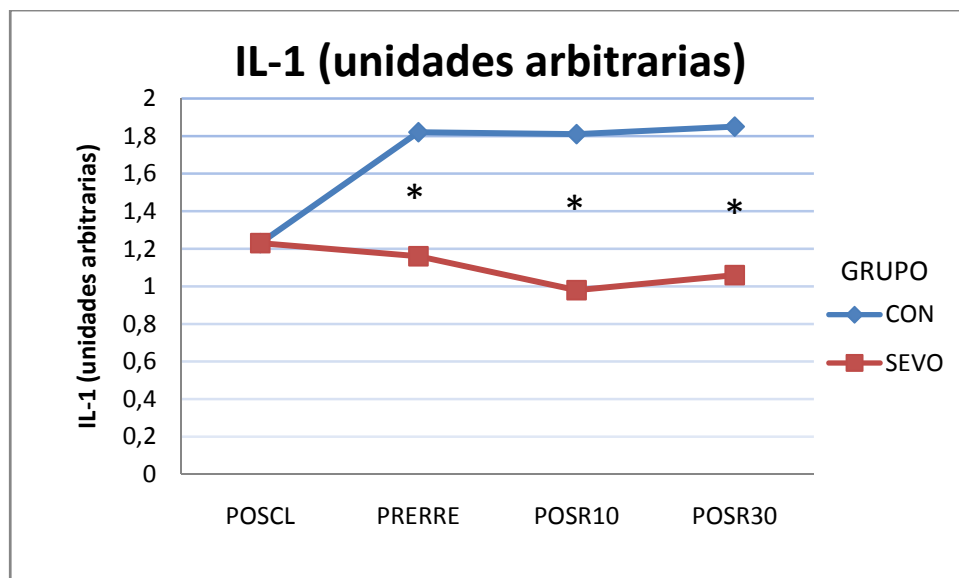


Figura 51. Comparación de la IL-1 (interleuquina 1). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

4.3.2.6- TNF- α (factor de necrosis tumoral α)

Los valores del TNF- α permanecen sin modificaciones hasta la reperfusión de 30 minutos, que ascienden significativamente al compararlos con los del postclampaje y pre-reperfusión.

En el grupo control aumenta en la pre-reperfusión respecto al postclampaje y posteriormente en ambos momentos de reperfusión aumenta a valores mayores que los del postclampaje y pre-reperfusión. En el grupo sevoflurano sus valores disminuyen desde la pre-reperfusión y hasta la reperfusión de 30 minutos a cifras significativamente menores que las del postclampaje.

Al comparar ambos grupos obtenemos valores mayores en el grupo sevoflurano en el momento de postclampaje. Y posteriormente esta situación se invierte, encontrando valores significativamente mayores en el grupo control desde la pre-reperfusión y hasta el final del experimento.

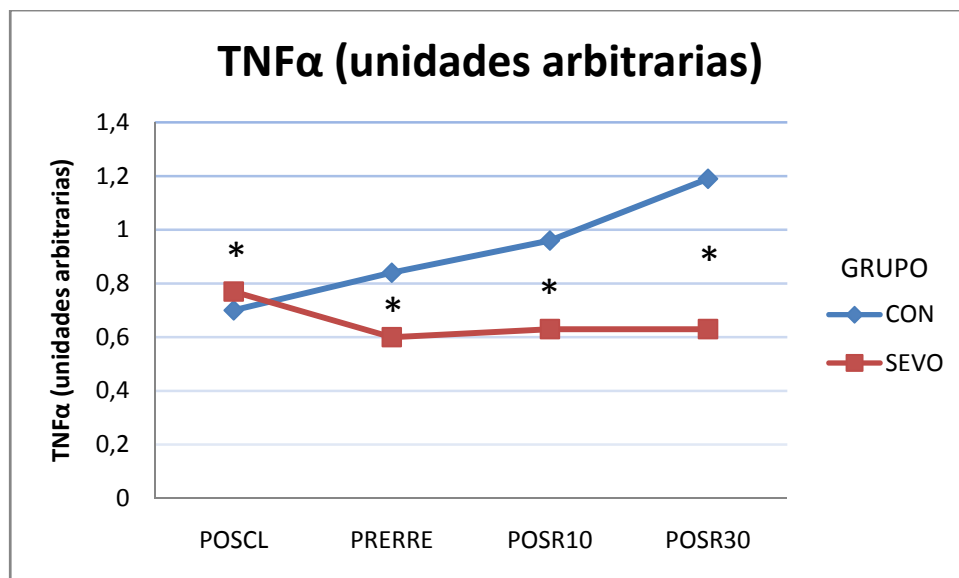


Figura 52. Comparación de TNF- α (factor de necrosis tumoral α). CON: Grupo control. SEVO: Grupo sevoflurano.

Tabla 9. Edema pulmonar, estrés oxidativo y actividad inflamatoria.

Variables	GRUPO	PREC	PRER	POSR10	POSR30
Edema pulmonar	CON	4,82(0,21)	4,91(0,48)	4,82(0,35)	4,87(0,01)
	SEV vs CON	NS	NS	NS	P=0,001
	SEV	4,29(0,22)	4,28(0,28)	4,55(0,29)	3,33(0,2) *¶
	TOTAL	4,555(0,22)	4,595(0,35)	4,685(0,30)	4,1(0,15)*¶
LPO (mmol/mg proteína)	CON	2,61(0,07)	3,61(0,05)*	3,64(0,09)*	3,88(0,06)*
	SEV vs CON	NS	P=0,047	P=0,049	P=0,02
	SEV	2,65(0,11)	3,06(0,09) *	2,87(0,14)	3,17(0,11)
	TOTAL	2,63(0,1)	3,335(0,07)*	3,255(0,1)*	3,525(0,08)*
MDA (pmol/mg proteína)	CON	3,21 (0,13)	3,87(0,079) *	4,99(0,088) *¶	5,35(0,093) *¶
	SEV vs CON	NS	NS	P=0,044	P=0,04
	SEV	3,12(0,182)	3,52 (0,159)	3,64(0,149) *¶	4,47(0,159) *¶
	TOTAL	3,165(0,16)	3,695(0,11)	4,315(0,12)*¶	4,91(0,12)*¶
MPO (IU/mg proteína)	CON	0,07(0,004)	0,1(0,003)	0,18(0,004) *¶	0,23(0,005)*¶
	SEV vs CON	NS	NS	P=0,04	P=0,02
	SEV	0,04(0,003)	0,07(0,007)	0,09(0,006)	0,1(0,007)
	TOTAL	0,055(0,003)	0,085(0,006)	0,135(0,005)*¶	0,165(0,005)*¶
IL-1 (unidades arbitrarias)	CON	1,23(0,01)	1,82(0,04)*	1,81(0,05) *	1,85(0,02)*
	SEV vs CON	NS	P=0,01	P=0,049	P=0,038
	SEV	1,23(0,04)	1,16(0,06)	0,98(0,06) *¶	1,06(0,04)
	TOTAL	1,23(0,03)	1,49(0,05)	1,395(0,06)	1,455(0,04)
TNF-α (unidades arbitrarias)	CON	0,70(0,01)	0,84(0,02) *	0,96(0,02) *¶	1,19(0,02) *¶
	SEV vs CON	P=0,046	P=0,04	P=0,04	P=0,015
	SEV	0,77(0,01)	0,60(0,01) *	0,63(0,02) *	0,63(0,01) *
	TOTAL	0,735(0,01)	0,72(0,02)	0,795(0,02)	0,91(0,02)*¶

Datos expresados como media y desviación estándar. LPO: Lipoperoxidasa; MDA: Malondialdehído; MPO: Mieloperoxidasa. IL-1: Interleuquina-1; TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; CON: control; SEVO: sevoflurano; POSCL: Postclampaje; PRER: Pre-reperfusion; POSR10: 10 min postreperfusion; POSR30: 30 min postreperfusion. . SEVO: Grupo

sevoflurano. CON: Grupo control. POSCL: Postclampaje. PRER: Pre-reperfusión. POSR10: Tras 10 minutos de reperfusión. POSR30: Tras 30 minutos de reperfusión.

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento postclampaje.

¶ Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en la comparación intragrupo (SEVO, CONTROL ó TOTAL) respecto al momento pre-reperfusión.

NS: no significativo.

5. DISCUSIÓN.

5. DISCUSIÓN

5.1. Precondicionamiento: precondicionamiento anestésico con sevoflurano. Efectos citoprotectores en la lesión IR pulmonar

La administración de sevoflurano en uno de los grupos experimentales de IR pulmonar resulta en una modulación de la respuesta del organismo frente al daño causado por la lesión IR pulmonar.

Desde que Murry en 1986 describiera el concepto de precondicionamiento (103), son numerosos los trabajos que se han realizado en torno a este fenómeno tanto en el campo experimental como en la clínica. Existen diversos estudios que relatan los efectos citoprotectores del sevoflurano en diferentes órganos, como son fundamentalmente: corazón, intestino, riñón, cerebro y en menor medida pulmonar (134).

A nivel de miocardio es donde existe una mayor evidencia del papel protector frente a la isquemia que ejerce el sevoflurano. A este respecto Bland y Lowenstein ya en 1976 describieron un menor ascenso en el registro electrocardiográfico del ST en un modelo de isquemia miocárdica en perros cuando se les sometía a periodos de oclusión coronaria (135). Este mismo grupo posteriormente demostró que además en el grupo de perros expuestos a halotano el tamaño del infarto era menor (136).

Estos descubrimientos equipararon de alguna manera la protección de los anestésicos volátiles a la del precondicionamiento isquémico descrito por Murry, surgiendo así la idea de precondicionamiento anestésico.

Además de en miocardio, como ya hemos explicado anteriormente el precondicionamiento con halogenados ha sido demostrado en otros órganos como son: riñón (126), hígado (127), sistema nervioso central (128) y pulmón (129-130).

5.2. Efectos del sevoflurano sobre Inflamación/ estrés oxidativo y metabolismo del NO, y su papel sobre la lesión IR pulmonar

5.2.1. Inflamación y estrés oxidativo

En nuestro experimento, el grupo de cerdos anestesiados con sevoflurano tiene un menor daño tras la IR que el sometido a mantenimiento anestésico con propofol. Aunque el tiempo de reperfusión es escaso (30 minutos), es el suficiente para mostrar diferencias entre ambos grupos respecto a diversos parámetros. Éstos, corresponden con los más empleados para medir el daño tras la IR como son; mediadores de la inflamación, estrés oxidativo y metabolismo del óxido nítrico. Así pues, este supone uno de los primeros trabajos en evaluar el papel citoprotector del sevoflurano en un modelo de IR pulmonar in vivo.

En algunos estudios experimentales, la exposición a halogenados durante la ventilación mecánica ha determinado una mayor respuesta inflamatoria pulmonar (137-139). Estos hallazgos contrastan con los de otros grupos que muestran una menor reacción inflamatoria al comparar los anestésicos volátiles y los intravenosos (140).

Estas discrepancias podrían deberse a diferencias en los modelos experimentales analizados. Pero en esta línea, se ha demostrado también que el uso de halogenados antes de inducir en el pulmón daño por exposición a lipopolisacáridos, atenúa la respuesta inflamatoria pulmonar al tiempo que mejora el pronóstico (141).

La capacidad de los anestésicos volátiles para proteger del daño pulmonar tras la IR no se ha estudiado in vivo. Liu confirmó esto, en sendos modelos experimentales de IR con pulmones aislados de rata y conejo (130, 142). Nosotros hemos obtenido resultados similares a los de Liu en cuanto a la expresión de TNF- α y metabolismo del NO al administrar sevoflurano en los pulmones de cerdos vivos, y no en pulmones aislados.

Sin embargo, el daño por IR es un fenómeno mucho más complejo, tanto que no es posible atribuir exclusivamente al TNF- α la autoría de único responsable de los daños. En nuestro trabajo, medimos los efectos que el sevoflurano provoca en un modelo vivo de IR pulmonar, al tiempo que se determinan también otros mediadores de la inflamación y estrés oxidativo para cuantificar y evaluar el daño pulmonar, como son: MPO, MDA, LPO e IL-1.

Parece estar claro que en el fenómeno de IR pulmonar se activan varios fenómenos que son los causantes que se produzca las lesiones: activación inflamatoria (TNF- α , IL 1) y leucocitaria (MPO) y sus consecuencias, un daño en las membranas celulares (MDA, LPO) (60) fruto del estrés oxidativo, y todos ellos en nuestro trabajo aparecen disminuidos en el grupo al que se le administró sevoflurano.

Sin embargo, Balyasnikova, en modelos in vitro de IR pulmonar en ratas determina un efecto antioxidante mayor en el grupo expuesto a propofol que en el expuesto a isoflurano (143). Estas diferencias respecto a nuestros resultados o los del grupo de Liu, son metodológicas, puesto que los tiempos de isquemia y minutos de perfusión del grupo de Balyasnikova son mucho menores (130, 142). Incluso las soluciones de preservación que emplean son diferentes a las de Liu, con lo que los resultados obtenidos podrían explicarse por estos motivos.

Pero nuestro modelo, además de ser un modelo vivo de IR pulmonar, se trata de un modelo de OLV, puesto que se trata de cirugía de resección pulmonar y por ello se precisa de la exclusión de la ventilación del pulmón operado. Por si misma la OLV conlleva un fenómeno de IR intrínseco, dado que el pulmón no desinflado y no ventilado se encuentra hipóxico, y por tanto sometido a los efectos de la vasoconstricción pulmonar hipóxica y posteriormente al reexpandirlo se recupera la perfusión (144). Esto ha sido claramente demostrado en cerdos que tras 60 minutos de OLV presentaban los vasos pulmonares del pulmón no ventilado congestionados (145).

Además, se ha observado que existe un daño asociado a la hipoxia del pulmón no ventilado durante la OLV en las células epiteliales alveolares in vitro (146). Esto fue confirmado en un modelo experimental de pulmones aislados de conejo, en los que la formación y re-expansión de atelectasias aunque de escasa duración elevaban la producción de citoquinas (147).

Por tanto, son diversos los efectos que la OLV y las resecciones de tejido pulmonar tienen sobre el pulmón, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria. Jordan et al describieron la patogénesis del edema pulmonar postneumonectomía (148) y su origen multifactorial: alteración vascular pulmonar, balance hídrico, ventilación unipulmonar, respuesta inflamatoria y estrés oxidativo entre otros. Posteriormente el grupo de Misthos asocia con más detalle el estrés oxidativo, mediante la medición de MDA, con la OLV. De hecho el factor determinante para el daño pulmonar es la duración de la OLV, si bien existen otros hallazgos como la presencia de cáncer broncopulmonar como patogénesis del daño pulmonar tras cirugía torácica (149). El mismo grupo determinó que el daño asociado al estrés oxidativo es por si mismo un indicador de complicaciones mayores en el postoperatorio de cirugía torácica, llegando a marcar en un límite de 60 minutos en la duración de la OLV para tener estos resultados (150).

Por tanto hay líneas de investigación que se han dedicado a intentar disminuir este daño causado por la propia OLV y uno de los hallazgos encontrados es que el sevoflurano disminuye esta respuesta inflamatoria y mejora el pronóstico en pacientes sometidos a cirugía torácica (151). En este interesante trabajo De Conno et al, realizan lavados broncoalveolares en pacientes sometidos a cirugía torácica antes y después de la OLV en el pulmón que va a ser excluido de la ventilación o no dependiente, encontrando un importante aumento de TNF- α , IL 6, IL 8 y de la proteína 1 de quimiotaxis de monocitos.

Los resultados son similares a los hallados por nosotros, si bien en nuestro trabajo encontramos diferencias además de en el TNF- α , también en la IL 1. En nuestro modelo llama la atención

como el TNF- α es mayor en el grupo sevoflurano tras el clampaje de la arteria pulmonar, y en las siguientes mediciones desciende a valores inferiores que en el grupo control. Estas diferencias, aumento de TNF- α , entre ambos grupos, en los momentos de pre-reperusión y tras la reperusión precoz (10 minutos) y tardía (30 minutos), es similar a lo encontrado por otros grupos y confirma el papel protector del sevoflurano tanto del daño por IR como por el de OLV. Se observa además como en el grupo control las cantidades de TNF- α aumentan progresivamente, fenómeno que no sucede en el grupo sevoflurano, e incluso llega a descender o mantenerse como en el caso de la reperusión.

El hecho de que en el postclampaje, el TNF- α sea mayor en el grupo de sevoflurano que en el control, estaría en consonancia a lo hallado por Kotani et al (137, 139) y opuesto a lo encontrado por De Conno. Esto podría deberse a diferencias metodológicas en los trabajos. A medida que se manifiesta el daño que causa la OLV y posteriormente la IR, se hace patente el efecto protector del sevoflurano en cuanto a la expresión de TNF- α .

Lo mismo sucede con los niveles de IL-1, puesto que desde la pre-reperusión y en la reperusión precoz y tardía, los niveles en el grupo sevoflurano son menores que en el control, esto es similar a lo encontrado por otros grupos (152-153).

De Conno et al no encuentran diferencias en cuanto a estos mediadores a nivel sistémico realizando las mediciones al mismo tiempo que los lavados. Sin embargo al realizar un seguimiento a los pacientes, concluyen que los que han recibido sevoflurano y presentado una menor respuesta inflamatoria local, presentan un menor número de complicaciones y por tanto un mejor pronóstico (151).

Schilling et al por su parte encontraron que la administración de desflurano disminuía la respuesta inflamatoria; TNF- α , IL 8, IL 10 y PMN en el lavado broncoalveolar del pulmón dependiente (140). Posteriormente este mismo grupo realiza un tercer grupo de pacientes

sometidos a cirugía torácica bajo anestesia con sevoflurano, y lo compara con el grupo anestesiado con propofol y desflurano (154). En este reciente trabajo se muestra una disminución de la respuesta inflamatoria en el pulmón ventilado bajo anestesia inhalatoria, tanto sevoflurano como desflurano. Además no encuentra diferencias a nivel sistémico en cuanto a aumento de mediadores tales como TNF- α o interleuquinas.

Sin embargo en contrapartida a esto, existen ciertos trabajos de cirugía torácica en el que si aumentan los mediadores proinflamatorios sistémicos (155), estas diferencias se deben a que en este caso, la cirugía no es de resección pulmonar, sino que se trata de esofagectomías, por lo que la respuesta inflamatoria sistémica es mayor.

En nuestro trabajo no existen diferencias en cuanto a la duración de la OLV, por lo que una de las variables más importantes para encontrar diferencias entre los grupos es eliminada.

Sin embargo el hecho que haya una mayor activación de la inflamación y estrés oxidativo en el grupo propofol que en el preconditionado con sevoflurano puede deberse a varios motivos. Por un lado, como ya hemos visto, tanto el pulmón no ventilado como el ventilado con sevoflurano presentarían un menor daño asociado a la OLV (151, 154) comparado con el de propofol. Por otro lado al igual que en los experimentos de Liu, el preconditionamiento anestésico protegería de la lesión inherente a la IR (130, 142).

El mecanismo exacto por el que actúa el preconditionamiento anestésico no es bien conocido, si bien Tanaka describió el principal mecanismo en miocardio, al igual que el preconditionamiento isquémico mediante la apertura de canales de K⁺ATP dependientes como pivote y punto común de los mecanismos preconditionadores (120). Zaugg concretó más el mecanismo por el que los halogenados tenían la capacidad de preconditionar tejidos (miocardio en este caso) concluyendo que era debido a una cascada de señales mediadas por protein-kinasas C que llevaban finalmente

a la apertura de canales de K⁺ATP dependientes mitocondriales y no a nivel del sarcolema (104).

Recientemente se ha descrito otro mecanismo por el que los anestésicos halogenados y más concretamente el sevoflurano pueden proteger de las lesiones provocadas por la IR y por tanto preconditionar, se trata de un mecanismo de protección endotelial. Existen diferentes trabajos en esta línea, pero uno de los más completos es el del grupo de Lucchinetti et al, en el que someten a humanos sanos a un periodo de isquemia en el miembro superior y posteriormente evalúan la función endotelial evaluando el flujo sanguíneo y además miden mediante citometría la activación leucocitaria mediante los marcadores CD11b y CD 42b leucocitarios (156). Sus resultados muestran una disminución de la activación leucocitaria y un mayor flujo que denominan reacción hiperémica en el grupo al que se le administró sevoflurano. Además concluyen que el endotelio es uno de los efectores de la protección otorgada por el sevoflurano.

Este hallazgo encontrado por Lucchinetti, podría estar en relación con el trabajo de Annecke et al sobre corazones de cerdo in vitro, en el que hablan de un efecto protector del sevoflurano sobre el glicocálix endotelial (157).

El glicocálix consiste en una estructura adherida a la membrana plasmática de glicosaminglicanos unidos a unos proteoglicanos de membrana. Tiene un grosor de 1 a 3 micras, pudiendo llegar a ser más ancho que la propia célula endotelial. Tiene diversas funciones entre las que se encuentran; inmunológicas (reclutamiento leucocitario), de protección de la célula, adherencia celular y resistencia vascular y permeabilidad entre otras (158). Existen grandes evidencias de las lesiones sufridas por esta estructura durante la IR en diversos órganos (159-160), los mecanismos por los cuales se destruye están en relación con la actividad de dos enzimas, la triptasa B y la catepsina B.

Existen a su vez diversas maneras de disminuir este daño como puede ser el tratamiento con hidrocortisona, antitrombina e incluso el preconditionamiento isquémico (161-163). En el trabajo de Annecke, se pone de manifiesto a través de la microscopía electrónica y otros marcadores del daño en el glicocáliz (CD138 y heparan sulfato), que en el grupo de corazones sometidos a IR miocárdica con sevoflurano el glicocáliz permanece en mejor estado al compararlo con el grupo control (157). Al parecer, la inhibición que el sevoflurano provoca sobre la expresión de TNF- α (126), podría ser el causante de la reducción en la liberación de catepsina B y así de la disminución del daño en el glicocáliz.

Como ya hemos explicado anteriormente la IR es un fenómeno complejo, hasta ahora hemos visto el papel preconditionante del sevoflurano a través de la disminución de la inflamación (tanto por la IR, como por la OLV) mediante el bloqueo en la expresión de TNF- α e IL 1.

La consecuencia directa de una menor actividad inflamatoria en el grupo al que se le administra sevoflurano, es un menor daño celular, en concreto en nuestro experimento medimos el daño producido en las membranas celulares.

La activación y migración leucocitaria consecuencia de la IR, va a provocar que los neutrófilos acudan por quimiotaxis (TNF- α e IL 1), se adhieran al endotelio y liberen el contenido enzimático de sus lisosomas, fundamentalmente peroxidasas (MPO). La liberación de estas enzimas como la LPO, daña directamente la bicapa fosfolipídica de manera irreversible formándose aldehídos como el MDA, que es un marcador de destrucción celular como ya hemos visto (21-22).

En nuestro trabajo, encontramos un aumento progresivo de la infiltración leucocitaria (MPO) en ambos grupo, pero estadísticamente significativo el aumento intragrupo en el grupo control en la reperfusión a los 10 y 30 minutos respecto a la pre-reperfusión. Además tras la reperfusión los

niveles de MPO son mayores en el grupo control que en el preconditionado con sevoflurano, poniendo de manifiesto la menor infiltración leucocitaria por la acción protectora del sevoflurano tras la reperfusión (164). Estos mismos hallazgos han sido relatados por otros grupos que muestran un aumento bifásico en los leucocitos en el tejido reperfundido (61, 165).

En cuanto a la actividad LPO y sus derivados como el MDA, nuestros resultados son esclarecedores:

En el caso de la LPO, su actividad aumenta progresivamente conforme avanza el experimento y esto es más evidente tras la reperfusión y sobretodo en el grupo no preconditionado con gas halogenado. Esto indica claramente que el aumento del estrés oxidativo tisular es una consecuencia precoz de la IR (166). Al comparar ambos grupos se observa mayor actividad LPO en el grupo no preconditionado con sevoflurano, especialmente desde momentos antes de la reperfusión y hasta el final del experimento, es decir, hasta los 30 minutos de reperfusión, por lo que el sevoflurano disminuye la actividad oxidativa, al igual que lo hallado por Novalija et al (164).

Respecto al MDA, producto de la oxidación de los componentes lipídicos de las membranas plasmáticas durante el proceso de IR, se observa un aumento progresivo en los dos grupos. Al analizar cada grupo por separado, se observa en el control que el aumento es significativo respecto al postclampaje, y en el caso de la reperfusión precoz, respecto a la pre-reperfusión. En el caso del grupo sevoflurano, se observa un aumento progresivo pero significativo en la pre-reperfusión y en ambas reperfusiones al compararlas con el momento postclampaje. Además al comparar ambos grupos se observan diferencias, puesto que si bien ambos sufren un aumento progresivo de los valores de MDA, son mucho mayores en el grupo control, siendo estas diferencias significativas tanto en la reperfusión precoz, como en la reperfusión a los 30 minutos.

Por lo que estos hallazgos concuerdan con lo encontrado por otros autores como Liu en pulmones aislados de rata y conejo (130, 142) y en los trabajos sobre preconditionamiento anestésico en miocardio, en los que se concluye que los halogenados, sobretodo el sevoflurano, son capaces de disminuir el estrés oxidativo (LPO y MDA en nuestro caso) en los fenómenos de IR (164, 167).

Sin embargo difiere de lo encontrado por otros grupos, en los que resaltan la capacidad antioxidante del propofol (143, 168-169). En estos trabajos, los autores no realizan una comparación con halogenados, sino que comprueban el descenso de la actividad oxidativa y sus derivados como el MDA.

Por el contrario, existen otros grupos, como el de Arnautoglou, especialmente en procesos relacionados con traumatología y la isquemia neumática de miembros inferiores, que si comparan sevoflurano y propofol y estrés oxidativo, y concluyen que el propofol, dado sus efectos antioxidantes, disminuye más la lipoperoxidación de las membranas que el sevoflurano (170-171). Cabe destacar que en el trabajo de Arnautoglou, las diferencias que encuentra son intragrupo, puesto que hallan un descenso significativo en los niveles de MDA en el grupo propofol tras la reperusión respecto al inicio de la intervención. Sin embargo en el grupo sevoflurano encuentran un aumento en esos mismos momentos, pero por el contrario, no existen diferencias al comparar ambos grupos (sevoflurano y propofol). Además, aunque se trate de un fenómeno de IR, la IR pulmonar parece un fenómeno más complejo, con otras particularidades, como es la OLV, que pueden modificar estos resultados.

Respecto al edema pulmonar, pese a no ser una medida muy sensible de daño pulmonar, en nuestra experiencia se pone de manifiesto mayor cantidad de agua en el grupo de propofol respecto al grupo sevoflurano a los 30 minutos de reperusión. Pero lo más llamativo, es la disminución del edema que existe en el grupo sevoflurano tras la reperusión de 30 minutos

respecto a la reperfusión precoz, pre-reperfusión y postclampaje. Lo cual pone de manifiesto la capacidad del sevoflurano para evitar el aumento de la permeabilidad microvascular resultante del daño endotelial que produce la reacción inflamatoria y RLO como consecuencia de los procesos de IR pulmonar.

Esto es similar a lo encontrado por Liu en sus experiencias con pulmones aislados de rata y conejo al someterlos al preconditionamiento anestésico con isoflurano y sevoflurano (130, 142). Existen trabajos en los que asocian un mayor edema pulmonar al comparar grupos de diferentes volúmenes corrientes. El mayor edema se asocia a mayores volúmenes (172). Sin embargo en nuestra serie, no existen diferencias en cuanto a los volúmenes corrientes empleados en la ventilación de ambos grupos de animales, por lo que las diferencias halladas no se pueden achacar a este fenómeno.

5.2.2. Óxido nítrico

Existe una dualidad de efectos derivados del NO. Cuando es sintetizado por la eNOS o NOS III y por la nNOS o NOS I, tiene efectos beneficiosos, y cuando es sintetizado por la iNOS dañinos (173).

Nuestros resultados en consonancia a otros grupos de investigadores (174-175) muestran que en el grupo control el NO cae drásticamente tras el clampaje de la arteria pulmonar, permaneciendo en niveles bajos durante el resto del experimento. Estas diferencias son significativas al comparar la cantidad de NO intragrupo en el grupo control en el postclampaje con el resto de mediciones (pre-reperfusión, reperfusión 10 y 30 minutos). Sin embargo en el grupo sevoflurano la cantidad de NO permanece constante a lo largo de todo el proceso, sin hallarse diferencias. Además existe diferencia estadísticamente significativa al comparar el grupo sevoflurano y el control en los momentos de pre-reperfusión, reperfusión 10 y 30 minutos, debido a la caída que el NO sufre en el grupo control y los valores constantes del grupo preconditionado con

sevoflurano. Esta caída en el grupo control, sucede a expensas de la disminución en la síntesis de las isoformas constitutivas de la NOS (eNOS y nNOS) y que no tiene lugar en el grupo preconditionado (174).

Así pues, la eNOS en el grupo control disminuye tras el clampaje de la arteria pulmonar, siendo este descenso significativo en los siguientes valores intragrupo, tanto en la pre-reperusión como en ambos momentos de la reperusión. Sin embargo en el grupo sevoflurano esta isoenzima aumenta tras el clampaje, siendo este aumento estadísticamente significativo en los siguientes momentos de medición en los valores intragrupo. Al observar ambos grupos se observa que este descenso en el grupo control y aumento en el grupo sevoflurano, marca unas diferencias significativas tras el clampaje de la arteria pulmonar.

Esto es similar a lo encontrado por el grupo de Kaminski, que encontraban que tras realizar preconditionamiento isquémico en el pulmón de rata, obtenían valores mayores de eNOS y NO. Esto condicionaba una menor adherencia y migración leucocitaria en dicho grupo frente al no preconditionado y posteriormente un menor daño pulmonar y edema (176).

Algo parecido sucede con la nNOS: en el grupo control descienden sus niveles tras el clampaje de la arteria pulmonar y se mantiene en niveles bajos durante todo el proceso al compararlos con el valor inicial en el postclampaje inmediato. Sin embargo en el grupo sevoflurano los niveles de nNOS se mantienen estables todo el proceso. Existen pues, diferencias significativas al comparar los niveles de nNOS de ambos grupos tanto en la pre-reperusión, y en la reperusión a los 10 y 30 minutos.

La iNOS sin embargo, al igual que numerosos trabajos (164, 177) sufre en el grupo control un aumento progresivo que a diferencia con el grupo sevoflurano que incluso desciende. Estas diferencias entre los grupos se hacen manifiestas tras el clampaje (pre-reperusión, y postreperusión 10 y 30 minutos). El principal estímulo para la expresión de iNOS es la IL-1 y

el TNF- α (178), como muestran Lu et al en un modelo aislado de pulmones de rata. Esto podría explicar que en el grupo control, dado que los niveles de IL-1 y de TNF- α son mayores que en el de sevoflurano por su efecto citoprotector, se exprese mayor cantidad de iNOS. El NO producido por esta isoenzima rápidamente reacciona con las ROS y es destruido tras la reperusión (15).

Sin embargo nuestros hallazgos son contrarios a los encontrados por Sánchez et al(179), que realizan un clampaje aórtico de 30 minutos en cerdos y tras lo cual miden la actividad iNOS en los riñones. Así pues, obtienen menores cifras de iNOS en el grupo anestesiado con propofol frente al anestesiado con sevoflurano. Las diferencias de la actividad de esta isoenzima en los riñones entre los dos grupos aparecen a las 48 y 72 horas tras la reperusión, y no tras 30 minutos como sucede en nuestro proyecto.

Existen numerosas estrategias para compensar la caída del NO en procesos de IR, como el trasplante de pulmón. Algunas basadas en administrar los precursores como la L-arginina, para su formación (180) y otras en aplicar el NO inhalado directamente (181).

5.3. Efectos del sevoflurano sobre la Hemodinámica sistémica

Los dos grupos tienen un perfil estable y similar, sin haber grandes diferencias entre ambos.

a)PAM: Tan sólo existen diferencias entre ambos grupos tras la inducción anestésica, mostrando valores inferiores de la PAM en el grupo sevoflurano. Si bien el propofol es por si mismo vasodilatador, y disminuye las resistencias vasculares sistémicas (182), el sevoflurano provoca un descenso en la PAM dosis dependiente (183). Por tanto las diferencias encontradas podrían deberse a la elevada dosis de sevoflurano administrada en dicho grupo para poner de manifiesto sus efectos citoprotectores.

Tras la reperfusión se observan cifras inferiores en el grupo control, que podrían deberse a un mayor efecto de las moléculas vasodilatadoras liberadas durante el periodo de isquemia en el pulmón en dicho grupo (17). Sin embargo estas diferencias no alcanzan la significación estadística.

b)FC: No existen diferencias entre los grupos ni tampoco en las comparaciones intragrupo. Esto es debido al escaso efecto sobre la FC que ejercen ambos anestésicos. Cabe destacar la taquicardia refleja compensatoria basal que provoca el sevoflurano, consecuencia de la disminución de la PAM tras la inducción por su efecto vasodilatador dosis dependiente (184).

c)IRVS: La evolución es similar a la de la PAM, inicialmente las resistencias son menores en el grupo sevoflurano por la elevada CAM administrada inicialmente. Momentos antes del clampaje y hasta la pre-reperfusión las resistencias vasculares son mayores en el grupo sevoflurano, esto es así porque es en el momento de clampar la arteria pulmonar cuando se cambia en el grupo sevoflurano de éste a propofol, por lo que las resistencias permanecen más elevadas, mientras que en el grupo control el propofol hace patente su efecto vasodilatador (182).

Tras la reperfusión y debido a la liberación de cioquinas vasodilatadoras fruto de la lesión IR (185), las resistencias caen en ambos grupos, pero este descenso en los valores intragrupo sólo es significativo al comparar la reperfusión 30 minutos con los valores potclampaje en el grupo propofol. Sin embargo en el grupo sevoflurano no se puede afirmar que los valores tras la reperfusión sean inferiores a los previos.

d)IVS: Los valores del IVS son similares sin hallarse diferencias entre los grupos en ningún momento del proceso. Tan sólo destaca una evolución paralela con un descenso continuo tras la inducción y hasta la pre-reperfusión. Siendo significativo este descenso en el grupo propofol al comparar las cifras de la pre-reperfusión con las del preclampaje. Este descenso paralelo en ambos grupos puede deberse a dos motivos.

En primer lugar, se debe a que en ambos se les administra propofol desde el preclampaje y la depresión en la función cardiovascular es pues en esos momentos paralela (182).

En segundo lugar, tras la neumonectomía, el inflado del balón del catéter de arteria pulmonar, da lugar a una oclusión considerable de la sección transversal restante de la circulación pulmonar. Dicha oclusión, reduce de manera aguda la precarga sobre el ventrículo izquierdo e incrementa la poscarga del derecho, lo que origina una caída del índice cardíaco y de la presión en la aurícula izquierda. Esto puede llevar a infraestimar estos valores (186).

e)ITSVI: Este parámetro refleja el trabajo realizado por el ventrículo para eyectar la sangre hacia la aorta. Dependerá de la fuerza o presión ejercida (presión arterial media menos presión capilar) y del volumen eyectado (volumen sistólico), por lo tanto su resultado es consecuencia de los efectos de los anestésicos sobre el volumen sistólico y las resistencias vasculares.

No hay diferencias significativas entre los dos grupos, y en ambos tiene una evolución similar, puesto que tras el postclampaje y sobretodo en ambas reperfusiones, sufren un descenso a cifras significativamente menores a las del preclampaje y postclampaje en las comparaciones intragrupo. Esto es debido fundamentalmente al descenso de las resistencias acontecido en ambos grupos, especialmente en el control, tras la liberación al torrente sanguíneo de sustancias vasodilatadoras consecuencia de la lesión IR (187).

f)IC: El IC depende fundamentalmente del volumen sistólico, la frecuencia cardíaca y la superficie corporal. En el grupo control encontramos cifras mayores en los momentos de preclampaje y postclampaje, que no se corresponden con diferencias significativas en esos momentos en el IVS y la FC, aunque si superiores, especialmente el IVS. Estas diferencias con el grupo sevoflurano son a expensas del mayor volumen sistólico en el grupo control frente al sevoflurano.

Esto es debido a que es en esos momentos, cuando se acaba de administrar propofol al grupo sevoflurano, y sufre depresión de la función cardiovascular provocada por dicho agente hipnótico.

Por tanto se hace patente en nuestro trabajo que apenas existen diferencias entre los dos grupos, salvo una disminución en las RVS en el grupo control, con la alteración subsecuente de los parámetros dependientes de esta variable. Así como un mayor efecto depresor cardiovascular de la reperfusión en dicho grupo, debido a la protección que ejerce el sevoflurano sobre el lecho pulmonar sometido a la IR.

5.4. Efectos del sevoflurano sobre la Hemodinámica pulmonar

El catéter de arteria pulmonar con el balón distal hinchado para su colocación flota, y por tanto suele ubicarse en el 90% de los casos en el pulmón derecho (188). En nuestro experimento esto es de gran ayuda, puesto que se quiere evitar su colocación en el pulmón no dependiente ya que se realiza neumonectomía y esto no es posible con el catéter en la arteria pulmonar ipsilateral.

Además la colocación del catéter en el pulmón no dependiente da lugar a datos imprecisos de la hemodinámica pulmonar y sistémica. Esto es así por dos motivos. En primer lugar, un pulmón no dependiente atelectasiado aumentará sus resistencias vasculares pulmonares (VPH), para intentar mejorar el gradiente ventilación / perfusión. En segundo lugar, y aunque el pulmón no dependiente se encuentre ventilado con presión positiva teleespiratoria (PEEP), los valores de la PCP pueden ser erróneos (189).

a)PAPM: La presión pulmonar presenta una evolución paralela. No existen diferencias entre ambos grupos, si bien, los valores del grupo control son algo mayores, probablemente debido a

la elevada dosis de sevoflurano utilizada y su vasodilatación dosis dependiente, más marcada que la del propofol, por tratarse de dosis mayores (190).

En ambos grupos se observa que tras la reperfusión, la PAPM aumenta, de manera que alcanza en cada uno por separado, valores significativamente mayores que los iniciales. Esto se debe a los fenómenos propios de la reperfusión del injerto, con el llamado fenómeno de no reflujo, que cursa con microagregados y alteraciones endoteliales que provocan la obstrucción del lecho distal vascular (191). Este fenómeno está ampliamente estudiado en la reperfusión miocárdica tras los fenómenos de angioplastias percutáneas (192).

b)PCP: En ambos grupos la PCP aumenta significativamente tras el clampaje de la arteria pulmonar izquierda. Esto es debido a la sobrecarga que sufre el lecho vascular pulmonar restante, incrementándose las presiones en él (193).

Tras varios minutos de clampaje, en el momento pre-reperfusión, los valores de la PCP disminuyen en ambos grupos, esto se corresponde con una infraestimación en sus valores por parte del catéter de arteria pulmonar. Por tanto el descenso que sufren ambos grupos en la pre-reperfusión tanto del IVS como del IC puede ser debido a este fenómeno de infraestimación (186).

En el grupo al que se administró preconditionamiento anestésico con sevoflurano, los valores de la PCP permanecen estables hasta el final del experimento. En ambos grupos, los valores tras el desclampaje disminuyen porque el lecho vascular adquiere mayor complianza. Pese a que en ambos grupos, se trata de un injerto lobar denervado y por esto tiene menos capacidad para manejar la nueva volemia (194), prevalece el aumento de lecho vascular disponible.

Sin embargo, tras la reperfusión, mientras que en el grupo preconditionado los valores permanecen inalterados hasta la reperfusión tardía, en el grupo control comienzan a aumentar alcanzando diferencias significativas respecto a los previos a la reperfusión. Además los valores

en este grupo son significativamente mayores que los del grupo sevoflurano durante todo el proceso y especialmente tras la reperfusión.

Todo esto puede explicarse con un daño inflamatorio precoz en el endotelio del lecho pulmonar del grupo no preconditionado tras la reperfusión (195). Existen gran cantidad de citoquinas y radicales libres en mayor número en el grupo control, que alteran la permeabilidad de dicha estructura, produciéndose un acúmulo de líquido o edema alveolar, que aumenta las presiones capilares y altera la difusión de los gases y así el funcionamiento del injerto.

c)PVC: No existen diferencias en cuanto a la presión venosa central entre grupos ni al comparar los diferentes momentos. Esto es así porque en principio todos los especímenes son sanos y no se espera que presenten valvulopatías y cardiopatías que reflejen un aumento de la PVC. Probablemente con una reperfusión más tardía se observaría finalmente una sobrecarga derecha en el grupo no preconditionado que podría alterar este parámetro al alza (196). Pero para esto serían necesario días de reperfusión.

d)IRVP: No hay diferencias entre los grupos ni en las comparaciones intragrupo. Tan sólo se observan las alteraciones propias del acto quirúrgico como corresponde al aumento tras el clampaje y la disminución tras la reperfusión (197) al haber mayor lecho vascular disponible para circular la sangre.

Destaca además, que en el momento preclampaje, en el que ya está instaurada la VUP, las IRVP comienzan a ascender, aunque sin alcanzar la significación estadística. Esto es debido a la vasoconstricción pulmonar hipóxica, que aumenta las resistencias en el lecho vascular del pulmón no dependiente para mejorar el cociente ventilación / perfusión (110).

e)ITSVD: Al igual que el ITSVI, este parámetro refleja el trabajo realizado por el ventrículo para eyectar la sangre hacia la arteria pulmonar. Depende de la fuerza o presión ejercida (presión arterial pulmonar media menos presión venosa central) y del volumen eyectado (volumen

sistólico). No se aprecian variaciones en las cifras del ITSVD en ningún grupo ni entre ellos. Tras la reperfusión en ambos grupos sufre un aumento no significativo en relación al aumento del lecho vascular al que el ventrículo debe perfundir, esto es similar a los trabajos clásicos de termodilución en los que hallaban resultados similares tras los procedimientos de resección de parénquima pulmonar (198).

5.5. Efectos del sevoflurano sobre la oxigenación e intercambio gaseoso

a) A nivel sistémico

En nuestro experimento pese a haber VUP, no hay episodios de hipoxemia, puesto que se trata de especímenes sanos y se emplea en todo el proceso FiO_2 de 1.

En decúbito lateral, por efecto de la gravedad, la distribución aproximada de flujo sanguíneo a cada pulmón es de 60% al declive o dependiente y 40% al no dependiente. Si a esto añadimos los efectos que tiene la VPH cuando el pulmón proclive es excluido de la ventilación, obtenemos que el 50% del flujo que recibe éste, es desviado. Por tanto obtenemos un resultado final ya con la VUP instaurada de 20% del flujo, al pulmón no dependiente, frente al 80% del declive (199-200).

Así, se observa como en ambos grupos la PO_2 en el preclampaje, sufre un significativo descenso respecto a los valores basales. Esto es debido a que en este periodo ya está instaurada la VUP. Al excluir de la ventilación el pulmón izquierdo, éste no participa del intercambio gaseoso, pero sigue estando perfundido, por lo que se crea un shunt que hace que disminuya la PO_2 arterial sistémica.

Sin embargo, la gravedad por un lado, y la VPH por otro, hacen que este shunt no sea clínicamente importante, puesto que desvían más flujo al pulmón dependiente o ventilado.

Posteriormente, en el postclampaje observamos como nuevamente la PO_2 aumenta hasta los valores iniciales o basales. Esto es así porque en este momento la arteria pulmonar izquierda está clampada, y por tanto dicho pulmón está excluido de la ventilación y también de la circulación, por lo que se elimina el shunt existente (201).

En la reperfusión, observamos un descenso significativo en la oxigenación del grupo control. Evento que no sucede en grupo sevoflurano. Este fenómeno sucede porque se reanuda el flujo en dicho pulmón, y éste participa en el intercambio gaseoso, poniéndose de manifiesto la existencia de una alteración en la membrana alveolo-capilar que provoca una mala difusión de los gases a través de ella, viéndose afectado el intercambio gaseoso y así la oxigenación sistémica. La lesión de la membrana alveolo-capilar está en relación con la incrementada respuesta inflamatoria desarrollada en este grupo, ya que cursa con una degranulación masiva de un mayor número de neutrófilos (151).

Respecto a la PCO_2 y al ph, la evolución es paralela en ambos grupos y sufre los cambios esperados en relación a la VUP (202). Con un aumento de los valores de la PCO_2 al instaurarse la VUP para después volver a descender. Respecto al ph, se observa en ambos grupos un descenso desde la VUP y hasta el final del experimento.

A nivel de vena pulmonar del injerto

Se pone de manifiesto una mejor oxigenación en el grupo sevoflurano. Las diferencias obtenidas se deben exclusivamente al diferente manejo anestésico, puesto que el resto de variables son idénticas en ambos grupos. En el grupo precondicionado con sevoflurano la oxigenación y por ende el funcionamiento del injerto es mejor. Esto es debido, al igual que sucede a nivel sistémico a la menor respuesta inflamatoria que existe en las unidades alveolares (154).

b) A nivel de arteria pulmonar del injerto

No hay diferencias en los gases obtenidos a nivel de la arteria pulmonar del injerto, puesto que es sangre procedente del resto del organismo.

6. CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES

- 1- El preconditionamiento con sevoflurano profiere una protección celular temprana en la lesión de isquemia reperfusión pulmonar.
- 2- La protección que el sevoflurano ejerce sobre el pulmón está en relación con una menor actividad inflamatoria y una homeostasis adecuada del óxido nítrico.
- 3- A nivel hemodinámico apenas existen diferencias entre ambos grupos, poniéndose de manifiesto gran estabilidad a lo largo del proceso.
- 4- El injerto trasplantado tiene un mejor funcionamiento en el grupo preconditionado por sus efectos protectores frente a la inflamación.
- 5- Podría usarse el preconditionamiento con sevoflurano en donantes para mejorar la preservación de los injertos pulmonares trasplantados.

7. BIBLIOGRAFÍA.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Fan. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury of the liver. 1999.
2. Lynch, editor. Lung and Heart-Lung transplantation. . New York 2006.
3. King RC, Binns OA, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, et al. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg*. 2000 Jun;69(6):1681-5.
4. Ueno T, Yokomise H, Oka T, Puskas J, Mayer E, Slutsky AS, et al. The effect of PGE1 and temperature on lung function following preservation. *Transplantation*. 1991 Oct;52(4):626-30.
5. Haniuda M, Dresler CM, Mizuta T, Cooper JD, Patterson GA. Free radical-mediated vascular injury in lungs preserved at moderate hypothermia. *Ann Thorac Surg*. 1995 Nov;60(5):1376-81.
6. De Oliveira NC, Osaki S, Maloney JD, Meyer KC, Kohmoto T, D'Alessandro AM, et al. Lung transplantation with donation after cardiac death donors: long-term follow-up in a single center. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 May;139(5):1306-15.
7. Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, Nakamoto K, Hsieh CM, Yamazaki F, et al. The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1989 Sep;98(3):333-42.
8. Tang YJ, Wang CY, Dong YZ, Wang CD. Lung autotransplantation for treating bronchus neoplasms. *Chin Med J (Engl)*. 2007 Dec 20;120(24):2325-6.
9. Khimenko PL, Bagby GJ, Fuseler J, Taylor AE. Tumor necrosis factor-alpha in ischemia and reperfusion injury in rat lungs. *J Appl Physiol*. 1998 Dec;85(6):2005-11.
10. Cataneo AJ, Cataneo DC. Compensatory lung growth in autologous lobar implant: experimental study in dogs. *Transplant Proc*. 2006 Apr;38(3):958-62.
11. Nagao RK, Cataneo AJ. [Autologous lobar lung implant after pneumonectomy: experimental model in dogs]. *Acta Cir Bras*. 2005 Jul-Aug;20(4):311-6.
12. Davies LG, Rosser TH, West LR. Autotransplantation of the lung in sheep. *Thorax*. 1965 Nov;20(6):481-94.
13. McGahren ED, Teague WG, Flanagan TL, White BJ, Barone GW, Johnson AM, et al. Airway obstruction after autologous reimplantation of the porcine lobe. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1989 Apr;97(4):587-92.
14. Tanaka H, Tajimi K, Matsumoto A, Kobayashi K. Effects of milrinone on lung water content in dogs with acute pulmonary hypertension. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1992 Dec;28(4):201-8.
15. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Feb 15;167(4):490-511.
16. Kaszaki J, Wolfard A, Szalay L, Boros M. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc*. 2006 Apr;38(3):826-8.
17. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001 Jun;94(6):1133-8.
18. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol*. 1986 Jun;250(6 Pt 1):G749-53.
19. Geudens N, Vanaudenaerde BM, Neyrinck AP, Van De Wauwer C, Vos R, Verleden GM, et al. The importance of lymphocytes in lung ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc*. 2007 Oct;39(8):2659-62.
20. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*. 1985 Jan 17;312(3):159-63.

21. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 1999 Feb;49(2):91-102.
22. Al-Mehdi AB, Shuman H, Fisher AB. Intracellular generation of reactive oxygen species during nonhypoxic lung ischemia. *Am J Physiol.* 1997 Feb;272(2 Pt 1):L294-300.
23. Al-Mehdi AB, Zhao G, Dodia C, Tozawa K, Costa K, Muzykantov V, et al. Endothelial NADPH oxidase as the source of oxidants in lungs exposed to ischemia or high K⁺. *Circ Res.* 1998 Oct 5;83(7):730-7.
24. Yokomise H, Ueno T, Yamazaki F, Keshavjee S, Slutsky A, Patterson G. The effect and optimal time of administration of verapamil on lung preservation. *Transplantation.* 1990 Jun;49(6):1039-43.
25. Adkins WK, Taylor AE. Role of xanthine oxidase and neutrophils in ischemia-reperfusion injury in rabbit lung. *J Appl Physiol.* 1990 Dec;69(6):2012-8.
26. Padilla AM, Padilla JD. [Lung preservation: current practices]. *Arch Bronconeumol.* 2004 Feb;40(2):86-93.
27. Kennedy TP, Rao NV, Hopkins C, Pennington L, Tolley E, Hoidal JR. Role of reactive oxygen species in reperfusion injury of the rabbit lung. *J Clin Invest.* 1989 Apr;83(4):1326-35.
28. Malik UZ, Hundley NJ, Romero G, Radi R, Freeman BA, Tarpey MM, et al. Febuxostat inhibition of endothelial-bound XO: implications for targeting vascular ROS production. *Free Radic Biol Med.* 2011 Jul 1;51(1):179-84.
29. Boueiz A, Damarla M, Hassoun PM. Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008 May;294(5):L830-40.
30. Hoidal JR, Xu P, Huecksteadt T, Sanders KA, Pfeiffer K, Sturrock AB. Lung injury and oxidoreductases. *Environ Health Perspect.* 1998 Oct;106 Suppl 5:1235-9.
31. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med.* 2002 Sep 15;33(6):774-97.
32. Martelin E, Palvimo JJ, Lapatto R, Raivio KO. Nuclear factor Y activates the human xanthine oxidoreductase gene promoter. *FEBS Lett.* 2000 Sep 1;480(2-3):84-8.
33. Whidden MA, McClung JM, Falk DJ, Hudson MB, Smuder AJ, Nelson WB, et al. Xanthine oxidase contributes to mechanical ventilation-induced diaphragmatic oxidative stress and contractile dysfunction. *J Appl Physiol.* 2009 Feb;106(2):385-94.
34. Ward PA. Oxygen radicals, cytokines, adhesion molecules, and lung injury. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec;102 Suppl 10:13-6.
35. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, Ayene I, Eckenhoff RG. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest.* 1991 Aug;88(2):674-9.
36. Qayumi AK, Jamieson WR, Poostizadeh A, Germann E, Gillespie KD. Comparison of new iron chelating agents in the prevention of ischemia/reperfusion injury: a swine model of heart-lung transplantation. *J Invest Surg.* 1992 Apr-Jun;5(2):115-27.
37. Lansman. Endothelial mechanosensors: going with the flow. *Nature.* 1988;331:481-2.
38. Kohmoto J, Nakao A, Sugimoto R, Wang Y, Zhan J, Ueda H, et al. Carbon monoxide-saturated preservation solution protects lung grafts from ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008 Oct;136(4):1067-75.
39. Park YY. Ischemia/reperfusion Lung Injury Increases Serum Ferritin and Heme Oxygenase-1 in Rats. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2009 Jun;13(3):181-7.
40. McCoubrey WK, Jr., Ewing JF, Maines MD. Human heme oxygenase-2: characterization and expression of a full-length cDNA and evidence suggesting that the two HO-2 transcripts may differ by choice of polyadenylation signal. *Arch Biochem Biophys.* 1992 May 15;295(1):13-20.
41. Wunder C, Potter RF. The heme oxygenase system: its role in liver inflammation. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord.* 2003 Sep;3(3):199-208.

42. den Hengst WA, Gielis JF, Lin JY, Van Schil PE, De Windt LJ, Moens AL. Lung ischemia-reperfusion injury: a molecular and clinical view on a complex pathophysiological process. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010 Nov;299(5):H1283-99.
43. Prussin C. Cytokine flow cytometry: understanding cytokine biology at the single-cell level. *J Clin Immunol*. 1997 May;17(3):195-204.
44. Senger DR. Molecular framework for angiogenesis: a complex web of interactions between extravasated plasma proteins and endothelial cell proteins induced by angiogenic cytokines. *Am J Pathol*. 1996 Jul;149(1):1-7.
45. Vilcek J, Feldmann M. Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. *Trends Pharmacol Sci*. 2004 Apr;25(4):201-9.
46. Miller MD, Krangel MS. Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol*. 1992;12(1-2):17-46.
47. Zhao M, Fernandez LG, Doctor A, Sharma AK, Zarbock A, Tribble CG, et al. Alveolar macrophage activation is a key initiation signal for acute lung ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Nov;291(5):L1018-26.
48. Turchaninova MA, Rebrikov DV. [Profile of RNA cytokines in blood plasma under conditions of normal physiological state of human body]. *Mol Gen Mikrobiol Virusol*. 2009(2):22-4.
49. Chang DM, Hsu K, Ding YA, Chiang CH. Interleukin-1 in ischemia-reperfusion acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Oct;156(4 Pt 1):1230-4.
50. Scheringa M, Marquet RL. TNF: a brief review with emphasis on its antitumor activity. *Biotherapy*. 1990;2(3):275-81.
51. Beutler B. The complex regulation and biology of TNF (cachectin). *Crit Rev Oncog*. 1990;2(1):9-18.
52. Terlikowski SJ. Tumour necrosis factor and cancer treatment: a historical review and perspectives. *Rocz Akad Med Bialymst*. 2001;46:5-18.
53. Arias-Diaz J, Vara E, Garcia C, Gomez M, Balibrea JL. Tumour necrosis factor-alpha inhibits synthesis of surfactant by isolated human type II pneumocytes. *Eur J Surg*. 1993 Oct;159(10):541-9.
54. Arend WP, Dayer JM. Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1990 Mar;33(3):305-15.
55. Martin TR. Cytokines and lung injury: searching for useful biomarkers. *Crit Care Med*. 2005 Jan;33(1):230-2.
56. Krishnadasan B, Naidu BV, Byrne K, Fraga C, Verrier ED, Mulligan MS. The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003 Feb;125(2):261-72.
57. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M, et al. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jan 15;165(2):211-5.
58. Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Pattern of injury and the role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung. *J Surg Res*. 1995 Jun;58(6):713-8.
59. Linfert D, Chowdhry T, Rabb H. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. *Transplant Rev (Orlando)*. 2009 Jan;23(1):1-10.
60. Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung. *Am J Pathol*. 1997 May;150(5):1773-84.
61. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Cope JT, Laubach VE, et al. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001 Jun;121(6):1069-75.
62. Crinnion JN, Homer-Vanniasinkam S, Parkin SM, Gough MJ. Role of neutrophil-endothelial adhesion in skeletal muscle reperfusion injury. *Br J Surg*. 1996 Feb;83(2):251-4.

63. Riedemann NC, Ward PA. Complement in ischemia reperfusion injury. *Am J Pathol.* 2003 Feb;162(2):363-7.
64. Diepenhorst GM, van Gulik TM, Hack CE. Complement-mediated ischemia-reperfusion injury: lessons learned from animal and clinical studies. *Ann Surg.* 2009 Jun;249(6):889-99.
65. Stepkowski SM. Targeting of the fifth complement (C5) component to fight graft impairment after ischemia-reperfusion injury. *Transplantation.* 2008 Nov 27;86(10):1351.
66. Arumugam TV, Magnus T, Woodruff TM, Proctor LM, Shiels IA, Taylor SM. Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. *Clin Chim Acta.* 2006 Dec;374(1-2):33-45.
67. Ward PA. Role of complement, chemokines, and regulatory cytokines in acute lung injury. *Ann N Y Acad Sci.* 1996 Oct 31;796:104-12.
68. Chunsheng L, Peichun G, Xinhua H. Expression of intercellular adhesion molecule in lung tissues of experimental acute lung injury and the affect of Rhubarb on it. *Chin Med Sci J.* 2000 Jun;15(2):93-7.
69. Calfee CS, Eisner MD, Parsons PE, Thompson BT, Conner ER, Jr., Matthay MA, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and clinical outcomes in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med.* 2009 Feb;35(2):248-57.
70. Johns RA. Endothelium, anesthetics, and vascular control. *Anesthesiology.* 1993 Dec;79(6):1381-91.
71. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993 Dec 30;329(27):2002-12.
72. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:175-95.
73. Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res.* 1999 Dec;31(6):577-96.
74. Forstermann U, Pollock JS, Schmidt HH, Heller M, Murad F. Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Mar 1;88(5):1788-92.
75. Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol.* 1995;57:737-69.
76. Ischiropoulos H, al-Mehdi AB, Fisher AB. Reactive species in ischemic rat lung injury: contribution of peroxynitrite. *Am J Physiol.* 1995 Aug;269(2 Pt 1):L158-64.
77. Meade MO, Granton JT, Matte-Martyn A, McRae K, Weaver B, Cripps P, et al. A randomized trial of inhaled nitric oxide to prevent ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Jun 1;167(11):1483-9.
78. Deffebach ME, Charan NB, Lakshminarayan S, Butler J. The bronchial circulation. Small, but a vital attribute of the lung. *Am Rev Respir Dis.* 1987 Feb;135(2):463-81.
79. King RC BO, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, Tribble CG, Kron IL. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Thorac Surg* 2000;69:1681-5.
80. Varela. Primary Graft Failure Following Lung Transplantation: Is There Hope for Improvement? . *Arch Bronconeumol* 2005;41:473-4.
81. Di Napoli P, Taccardi AA, De Caterina R, Barsotti A. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: experimental data. *Ital Heart J.* 2002 Jun;3 Suppl 4:24S-8S.
82. DM A. pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop* 1996.
83. Yamazaki. Effects of staged versus sudden reperfusion after acute coronary occlusion in the dog. *J Am Coll Cardiol.* 1986.

84. Winquist RJ, Kerr S. Cerebral ischemia-reperfusion injury and adhesion. *Neurology*. 1997 Nov;49(5 Suppl 4):S23-6.
85. Ivatury RR, Diebel L, Porter JM, Simon RJ. Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome. *Surg Clin North Am*. 1997 Aug;77(4):783-800.
86. Perry MO. Compartment syndromes and reperfusion injury. *Surg Clin North Am*. 1988 Aug;68(4):853-64.
87. Del Rio F, Escudero D, De La Calle B, Vidal FG, Paredes MV, Nunez JR. [Evaluation and maintenance of the lung donor]. *Med Intensiva*. 2009 Jan-Feb;33(1):40-9.
88. Teke Z, Adali F, Kelten EC, Enli Y, Sackan KG, Karaman K, et al. Mannitol attenuates acute lung injury induced by infrarenal aortic occlusion-reperfusion in rats. *Surg Today*. 2011 Jul;41(7):955-65.
89. White CW, Repine JE. Pulmonary antioxidant defense mechanisms. *Exp Lung Res*. 1985;8(2-3):81-96.
90. Ali BH. Dimethyl sulfoxide: recent pharmacological and toxicological research. *Vet Hum Toxicol*. 2001 Aug;43(4):228-31.
91. Alvarez-Ayuso L, Gomez-Heras SG, Jorge E, Guardiola JM, Torralba A, Granado F, et al. Vitamin E action on oxidative state, endothelial function and morphology in long-term myocardial preservation. *Histol Histopathol*. 2010 May;25(5):577-87.
92. Yeginsu A, Ergin M. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in cold ischemic lung preservation. *Exp Clin Transplant*. 2009 Jun;7(2):94-8.
93. Okada Y, Kondo T. Impact of lung preservation solutions, Euro-Collins vs. low-potassium dextran, on early graft function: a review of five clinical studies. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Feb;12(1):10-4.
94. Hausen B, Beuke M, Schroeder F, Poets CF, Hewitt C, DelRossi AJ, et al. In vivo measurement of lung preservation solution efficacy: comparison of LPD, UW, EC and low K+-EC following short and extended ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1997 Nov;12(5):771-9; discussion 9-80.
95. Kalimeris K, Nastos C, Papoutsidakis N, Xanthopoulou MN, Defterevos G, Tympa A, et al. Iron chelation prevents lung injury after major hepatectomy. *Hepatol Res*. 2010 Aug;40(8):841-50.
96. Keshavjee S, Davis RD, Zamora MR, de Perrot M, Patterson GA. A randomized, placebo-controlled trial of complement inhibition in ischemia-reperfusion injury after lung transplantation in human beings. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Feb;129(2):423-8.
97. Zhang XD, Hou JF, Qin XJ, Li WL, Chen HL, Liu R, et al. Pentoxifylline inhibits intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and lung injury in experimental phosgene-exposure rats. *Inhal Toxicol*. 2010 Sep;22(11):889-95.
98. Balibrea-Cantero JL, Arias-Diaz J, Garcia C, Torres-Melero J, Simon C, Rodriguez JM, et al. Effect of pentoxifylline on the inhibition of surfactant synthesis induced by TNF-alpha in human type II pneumocytes. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Mar;149(3 Pt 1):699-706.
99. Vara E, Arias-Diaz J, Garcia C, Hernandez J, Balibrea JL. Both prostaglandin E2 and nitric oxide sequentially mediate the tumor necrosis factor alpha-induced inhibition of surfactant synthesis by human type II pneumocytes. *Arch Surg*. 1995 Dec;130(12):1279-85; discussion 86.
100. Balibrea JL, Garcia-Barreno B, Garcia-Barreno P, Municio AM. Pulmonary lung and surfactant lipid biosynthesis in dogs under septic and hypovolemic shock syndromes. *Int J Biochem*. 1979;10(1):91-6.
101. Muhlfeld C, Schaefer IM, Becker L, Bussinger C, Vollroth M, Bosch A, et al. Pre-ischaemic exogenous surfactant reduces pulmonary injury in rat ischaemia/reperfusion. *Eur Respir J*. 2009 Mar;33(3):625-33.

102. van der Kaaij NP, Haitsma JJ, Kluin J, Lambrecht BN, Lachmann B, de Bruin RW, et al. Surfactant pretreatment ameliorates ischemia-reperfusion injury of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005 May;27(5):774-82.
103. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986 Nov;74(5):1124-36.
104. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology*. 2002 Jul;97(1):4-14.
105. Behne M, Wilke HJ, Harder S. Clinical pharmacokinetics of sevoflurane. *Clin Pharmacokinet*. 1999 Jan;36(1):13-26.
106. Gilsanz F, Celemin R, Blanc G, Orts MM. [Sevoflurane]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1996 Aug-Sep;43(7):243-8.
107. Wissing H, Kuhn I, Rietbrock S, Fuhr U. Pharmacokinetics of inhaled anaesthetics in a clinical setting: comparison of desflurane, isoflurane and sevoflurane. *Br J Anaesth*. 2000 Apr;84(4):443-9.
108. Kharasch ED, Karol MD, Lanni C, Sawchuk R. Clinical sevoflurane metabolism and disposition. I. Sevoflurane and metabolite pharmacokinetics. *Anesthesiology*. 1995 Jun;82(6):1369-78.
109. Patel SS, Goa KL. Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs*. 1996 Apr;51(4):658-700.
110. Benumof JL. Mechanism of decreased blood flow to atelectatic lung. *J Appl Physiol*. 1979 Jun;46(6):1047-8.
111. Jensen KS, Micco AJ, Czartolomna J, Latham L, Voelkel NF. Rapid onset of hypoxic vasoconstriction in isolated lungs. *J Appl Physiol*. 1992 May;72(5):2018-23.
112. Pirlo AF, Benumof JL, Trousdale FR. Atelectatic lobe blood flow: open vs. closed chest, positive pressure vs. spontaneous ventilation. *J Appl Physiol*. 1981 May;50(5):1022-6.
113. Robin ED, Theodore J, Burke CM, Oesterle SN, Fowler MB, Jamieson SW, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction persists in the human transplanted lung. *Clin Sci (Lond)*. 1987 Mar;72(3):283-7.
114. Benumof JL, Pirlo AF, Johanson I, Trousdale FR. Interaction of PVO₂ with PAO₂ on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol*. 1981 Oct;51(4):871-4.
115. Kerbaul F, Bellezza M, Guidon C, Roussel L, Imbert M, Carpentier JP, et al. Effects of sevoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in anaesthetized piglets. *Br J Anaesth*. 2000 Sep;85(3):440-5.
116. Ishibe Y, Gui X, Uno H, Shiokawa Y, Umeda T, Suekane K. Effect of sevoflurane on hypoxic pulmonary vasoconstriction in the perfused rabbit lung. *Anesthesiology*. 1993 Dec;79(6):1348-53.
117. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology*. 2002 Jul;97(1):15-23.
118. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Is isoflurane-induced preconditioning dose related? *Anesthesiology*. 2002 Mar;96(3):675-80.
119. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology*. 1997 Aug;87(2):361-70.
120. Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics. *Anesthesiology*. 2004 Mar;100(3):707-21.
121. Han J, Kim E, Ho WK, Earm YE. Effects of volatile anesthetic isoflurane on ATP-sensitive K⁺ channels in rabbit ventricular myocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Dec 24;229(3):852-6.

122. Daut J, Maier-Rudolph W, von Beckerath N, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science*. 1990 Mar 16;247(4948):1341-4.
123. Kehl F, Krolikowski JG, Tessmer JP, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Increases in coronary collateral blood flow produced by sevoflurane are mediated by calcium-activated potassium (BKCa) channels in vivo. *Anesthesiology*. 2002 Sep;97(3):725-31.
124. Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Mar;84(5):1404-7.
125. Novalija E, Varadarajan SG, Camara AK, An J, Chen Q, Riess ML, et al. Anesthetic preconditioning: triggering role of reactive oxygen and nitrogen species in isolated hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Jul;283(1):H44-52.
126. Lee HT, Kim M, Jan M, Emala CW. Anti-inflammatory and antinecrotic effects of the volatile anesthetic sevoflurane in kidney proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006 Jul;291(1):F67-78.
127. Bedirli N, Ofluoglu E, Kerem M, Utebey G, Alper M, Yilmazer D, et al. Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Anesth Analg*. 2008 Mar;106(3):830-7, table of contents.
128. Matchett GA, Allard MW, Martin RD, Zhang JH. Neuroprotective effect of volatile anesthetic agents: molecular mechanisms. *Neurol Res*. 2009 Mar;31(2):128-34.
129. Suter D, Spahn DR, Blumenthal S, Reyes L, Booy C, Z'Graggen B R, et al. The immunomodulatory effect of sevoflurane in endotoxin-injured alveolar epithelial cells. *Anesth Analg*. 2007 Mar;104(3):638-45.
130. Liu R, Ishibe Y, Ueda M. Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs. *Anesthesiology*. 2000 Mar;92(3):833-40.
131. Sachs DH, Leight G, Cone J, Schwarz S, Stuart L, Rosenberg S. Transplantation in miniature swine. I. Fixation of the major histocompatibility complex. *Transplantation*. 1976 Dec;22(6):559-67.
132. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7;72:248-54.
133. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol*. 1982 Mar;78(3):206-9.
134. Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, Nasr SH, Emala CW. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. *Anesthesiology*. 2004 Dec;101(6):1313-24.
135. Bland JH, Lowenstein E. Halothane-induced decrease in experimental myocardial ischemia in the non-failing canine heart. *Anesthesiology*. 1976 Sep;45(3):287-93.
136. Davis RF, DeBoer LW, Rude RE, Lowenstein E, Maroko PR. The effect of halothane anesthesia on myocardial necrosis, hemodynamic performance, and regional myocardial blood flow in dogs following coronary artery occlusion. *Anesthesiology*. 1983 Nov;59(5):402-11.
137. Kotani N, Takahashi S, Sessler DI, Hashiba E, Kubota T, Hashimoto H, et al. Volatile anesthetics augment expression of proinflammatory cytokines in rat alveolar macrophages during mechanical ventilation. *Anesthesiology*. 1999 Jul;91(1):187-97.
138. Takala RS, Soukka HR, Salo MS, Kirvela OA, Kaapa PO, Rajamaki AA, et al. Pulmonary inflammatory mediators after sevoflurane and thiopentone anaesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2004 Jan;48(1):40-5.

139. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, Yasuda T, Ebina T, Muraoka M, et al. Expression of genes for proinflammatory cytokines in alveolar macrophages during propofol and isoflurane anesthesia. *Anesth Analg*. 1999 Nov;89(5):1250-6.
140. Schilling T, Kozian A, Kretzschmar M, Huth C, Welte T, Buhling F, et al. Effects of propofol and desflurane anaesthesia on the alveolar inflammatory response to one-lung ventilation. *Br J Anaesth*. 2007 Sep;99(3):368-75.
141. Steurer M, Schlapfer M, Z'Graggen B R, Booy C, Reyes L, Spahn DR, et al. The volatile anaesthetic sevoflurane attenuates lipopolysaccharide-induced injury in alveolar macrophages. *Clin Exp Immunol*. 2009 Feb;155(2):224-30.
142. Liu R, Ishibe Y, Ueda M, Hang Y. Isoflurane administration before ischemia and during reperfusion attenuates ischemia/reperfusion-induced injury of isolated rabbit lungs. *Anesth Analg*. 1999 Sep;89(3):561-5.
143. Balyasnikova IV, Visintine DJ, Gunnerson HB, Paisansathan C, Baughman VL, Minshall RD, et al. Propofol attenuates lung endothelial injury induced by ischemia-reperfusion and oxidative stress. *Anesth Analg*. 2005 Apr;100(4):929-36.
144. Gothard J. Lung injury after thoracic surgery and one-lung ventilation. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006 Feb;19(1):5-10.
145. Yin K, Gribbin E, Emanuel S, Orndorff R, Walker J, Weese J, et al. Histochemical alterations in one lung ventilation. *J Surg Res*. 2007 Jan;137(1):16-20.
146. Beck-Schimmer B, Schimmer RC, Madjdpour C, Bonvini JM, Pasch T, Ward PA. Hypoxia mediates increased neutrophil and macrophage adhesiveness to alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001 Dec;25(6):780-7.
147. Funakoshi T, Ishibe Y, Okazaki N, Miura K, Liu R, Nagai S, et al. Effect of re-expansion after short-period lung collapse on pulmonary capillary permeability and pro-inflammatory cytokine gene expression in isolated rabbit lungs. *Br J Anaesth*. 2004 Apr;92(4):558-63.
148. Jordan S, Mitchell JA, Quinlan GJ, Goldstraw P, Evans TW. The pathogenesis of lung injury following pulmonary resection. *Eur Respir J*. 2000 Apr;15(4):790-9.
149. Misthos P, Katsaragakis S, Milingos N, Kakaris S, Sepsas E, Athanassiadi K, et al. Postresectional pulmonary oxidative stress in lung cancer patients. The role of one-lung ventilation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005 Mar;27(3):379-82; discussion 82-3.
150. Misthos P, Katsaragakis S, Theodorou D, Milingos N, Skottis I. The degree of oxidative stress is associated with major adverse effects after lung resection: a prospective study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Apr;29(4):591-5.
151. De Conno E, Steurer MP, Wittlinger M, Zalunardo MP, Weder W, Schneiter D, et al. Anesthetic-induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation. *Anesthesiology*. 2009 Jun;110(6):1316-26.
152. Hofstetter C, Boost KA, Flondor M, Basagan-Mogol E, Betz C, Homann M, et al. Anti-inflammatory effects of sevoflurane and mild hypothermia in endotoxemic rats. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007 Aug;51(7):893-9.
153. Takala RS, Soukka H, Salo MS, Kirvela O, Kaapa P, Aantaa R. Gene expression of pulmonary cytokines after sevoflurane or thiopentone anaesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2006 Feb;50(2):163-7.
154. Schilling T, Kozian A, Senturk M, Huth C, Reinhold A, Hedenstierna G, et al. Effects of volatile and intravenous anesthesia on the alveolar and systemic inflammatory response in thoracic surgical patients. *Anesthesiology*. 2011 Jul;115(1):65-74.
155. Craig SR, Leaver HA, Yap PL, Pugh GC, Walker WS. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001 Sep;20(3):455-63.

156. Lucchinetti E, Ambrosio S, Aguirre J, Herrmann P, Harter L, Keel M, et al. Sevoflurane inhalation at sedative concentrations provides endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans. *Anesthesiology*. 2007 Feb;106(2):262-8.
157. Annecke T, Chappell D, Chen C, Jacob M, Welsch U, Sommerhoff CP, et al. Sevoflurane preserves the endothelial glycocalyx against ischaemia-reperfusion injury. *Br J Anaesth*. 2010 Apr;104(4):414-21.
158. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007;9:121-67.
159. Mulivor AW, Lipowsky HH. Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 May;286(5):H1672-80.
160. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Jun;290(6):H2247-56.
161. Beresewicz A, Czarnowska E, Maczewski M. Ischemic preconditioning and superoxide dismutase protect against endothelial dysfunction and endothelium glycocalyx disruption in the postischemic guinea-pig hearts. *Mol Cell Biochem*. 1998 Sep;186(1-2):87-97.
162. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Bruegger D, Rehm M, Conzen P, et al. Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology*. 2007 Nov;107(5):776-84.
163. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Rehm M, Welsch U, Conzen P, et al. Antithrombin reduces shedding of the endothelial glycocalyx following ischaemia/reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2009 Jul 15;83(2):388-96.
164. Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF. Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology*. 1999 Sep;91(3):701-12.
165. Adoumie R, Serrick C, Giaid A, Shennib H. Early cellular events in the lung allograft. *Ann Thorac Surg*. 1992 Dec;54(6):1071-6; discussion 6-7.
166. Akao T, Takeyoshi I, Totsuka O, Arakawa K, Muraoka M, Kobayashi K, et al. Effect of the free radical scavenger MCI-186 on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs. *J Heart Lung Transplant*. 2006 Aug;25(8):965-71.
167. De Hert SG, ten Broecke PW, Mertens E, Van Sommeren EW, De Blier IG, Stockman BA, et al. Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology*. 2002 Jul;97(1):42-9.
168. Murphy PG, Bennett JR, Myers DS, Davies MJ, Jones JG. The effect of propofol anaesthesia on free radical-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Eur J Anaesthesiol*. 1993 Jul;10(4):261-6.
169. Alvarez-Ayuso L, Calero P, Granado F, Jorge E, Herrero C, Torralba A, et al. Antioxidant effect of gamma-tocopherol supplied by propofol preparations (Diprivan) during ischemia-reperfusion in experimental lung transplantation. *Transpl Int*. 2004 Feb;17(2):71-7.
170. Budic I, Pavlovic D, Cvetkovic T, Djordjevic N, Simic D, Milojevic I, et al. The effects of different anesthesia techniques on free radical production after tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury at children's age. *Vojnosanit Pregl*. 2010 Aug;67(8):659-64.
171. Arnaoutoglou H, Vretzakis G, Souliotis D, Cambili M, Galaris D, Papadopoulos G. The effects of propofol or sevoflurane on free radical production after tourniquet induced ischaemia-reperfusion injury during knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Belg*. 2007;58(1):3-6.
172. Matsuyama H, Amaya F, Hashimoto S, Ueno H, Beppu S, Mizuta M, et al. Acute lung inflammation and ventilator-induced lung injury caused by ATP via the P2Y receptors: an experimental study. *Respir Res*. 2008;9:79.
173. Eissa NT. Nitric oxide in acute lung injury. *Intensive Care Med*. 1998 Nov;24(11):1226-7.

174. Toda N, Toda H, Hatano Y. Nitric oxide: involvement in the effects of anesthetic agents. *Anesthesiology*. 2007 Nov;107(5):822-42.
175. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res*. 1994 Mar;74(3):376-82.
176. Kaminski A, Pohl CB, Sponholz C, Ma N, Stamm C, Vollmar B, et al. Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase inhibits pulmonary leukocyte migration following lung ischemia-reperfusion in mice. *Am J Pathol*. 2004 Jun;164(6):2241-9.
177. Liu SF, Adcock IM, Old RW, Barnes PJ, Evans TW. Differential regulation of the constitutive and inducible nitric oxide synthase mRNA by lipopolysaccharide treatment in vivo in the rat. *Crit Care Med*. 1996 Jul;24(7):1219-25.
178. Lu YT, Liu SF, Mitchell JA, Malik AB, Hellewell PG, Evans TW. The role of endogenous nitric oxide in modulating ischemia-reperfusion injury in the isolated, blood-perfused rat lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jan;157(1):273-9.
179. Sanchez-Conde P, Rodriguez-Lopez JM, Nicolas JL, Lozano FS, Garcia-Criado FJ, Cascajo C, et al. The comparative abilities of propofol and sevoflurane to modulate inflammation and oxidative stress in the kidney after aortic cross-clamping. *Anesth Analg*. 2008 Feb;106(2):371-8, table of contents.
180. Vainikka T, Heikkila L, Kukkonen S, Toivonen HJ. L-Arginine in lung graft preservation and reperfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2001 May;20(5):559-67.
181. Hermle G, Schutte H, Walmrath D, Geiger K, Seeger W, Grimminger F. Ventilation-perfusion mismatch after lung ischemia-reperfusion. Protective effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Oct;160(4):1179-87.
182. Vasileiou I, Xanthos T, Koudouna E, Perrea D, Klonaris C, Katsargyris A, et al. Propofol: a review of its non-anaesthetic effects. *Eur J Pharmacol*. 2009 Mar 1;605(1-3):1-8.
183. Takeda S, Sato N, Tomaru T. Haemodynamic and splanchnic organ blood flow responses during sevoflurane-induced hypotension in dogs. *Eur J Anaesthesiol*. 2002 Jun;19(6):442-6.
184. Husedzinovic I, Tonkovic D, Barisin S, Bradic N, Gasparovic S. Hemodynamic differences in sevoflurane versus propofol anesthesia. *Coll Antropol*. 2003 Jun;27(1):205-12.
185. Benoit JN, Taylor MS. Vascular reactivity following ischemia/reperfusion. *Front Biosci*. 1997;2:e28-33.
186. Wittnich C, Trudel J, Zidulka A, Chiu RC. Misleading "pulmonary wedge pressure" after pneumonectomy: its importance in postoperative fluid therapy. *Ann Thorac Surg*. 1986 Aug;42(2):192-6.
187. Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg*. 2005 Jul;19(4):572-84.
188. Parlow JL, Milne B, Cervencko FW. Balloon flotation is more important than flow direction in determining the position of flow-directed pulmonary artery catheters. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1992 Feb;6(1):20-3.
189. Hasan FM, Malanga A, Corrao WM, Braman SS. Effect of catheter position on thermodilution cardiac output during continuous positive-pressure ventilation. *Crit Care Med*. 1984 Apr;12(4):387-90.
190. Nishiyama T, Aibiki M, Hanaoka K. Haemodynamic and catecholamine changes during rapid sevoflurane induction with tidal volume breathing. *Can J Anaesth*. 1997 Oct;44(10):1066-70.
191. Maksimenko AV, Turashev AD. No-reflow phenomenon and endothelial glycocalyx of microcirculation. *Biochem Res Int*. 2012;2012:859231.
192. Niccoli G, Cosentino N, Spaziani C, Minelli S, Fracassi F, Crea F. New strategies for the management of no-reflow after primary percutaneous coronary intervention. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2011 May;9(5):615-30.

193. Hayashida R. [Experimental study of changes in the right-sided heart hemodynamics and in the reserve force of pulmonary vascular bed after pneumonectomy]. *Nihon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. 1992 Jan;40(1):28-35.
194. Johnson AM, Teague WG, Flanagan TL, McGahren ED, Kron IL. Decreased vascular compliance after reimplantation of the left lower lobe in young pigs. *Ann Thorac Surg*. 1990 Aug;50(2):277-80.
195. Hoffman SA, Wang L, Shah CV, Ahya VN, Pochettino A, Olthoff K, et al. Plasma cytokines and chemokines in primary graft dysfunction post-lung transplantation. *Am J Transplant*. 2009 Feb;9(2):389-96.
196. Pilcher DV, Scheinkestel CD, Snell GI, Davey-Quinn A, Bailey MJ, Williams TJ. High central venous pressure is associated with prolonged mechanical ventilation and increased mortality after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Apr;129(4):912-8.
197. Rosenberg AL, Rao M, Benedict PE. Anesthetic implications for lung transplantation. *Anesthesiol Clin North America*. 2004 Dec;22(4):767-88.
198. Reed CE, Dorman BH, Spinale FG. Assessment of right ventricular contractile performance after pulmonary resection. *Ann Thorac Surg*. 1993 Sep;56(3):426-31; discussion 31-2.
199. Werner O, Malmkvist G, Beckman A, Stahle S, Nordstrom L. Gas exchange and haemodynamics during thoracotomy. *Br J Anaesth*. 1984 Dec;56(12):1343-9.
200. Marshall BE, Marshall C. Continuity of response to hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol*. 1980 Aug;49(2):189-96.
201. Ishikawa S, Lohser J. One-lung ventilation and arterial oxygenation. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2011 Feb;24(1):24-31.
202. Senturk M. New concepts of the management of one-lung ventilation. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006 Feb;19(1):1-4.

